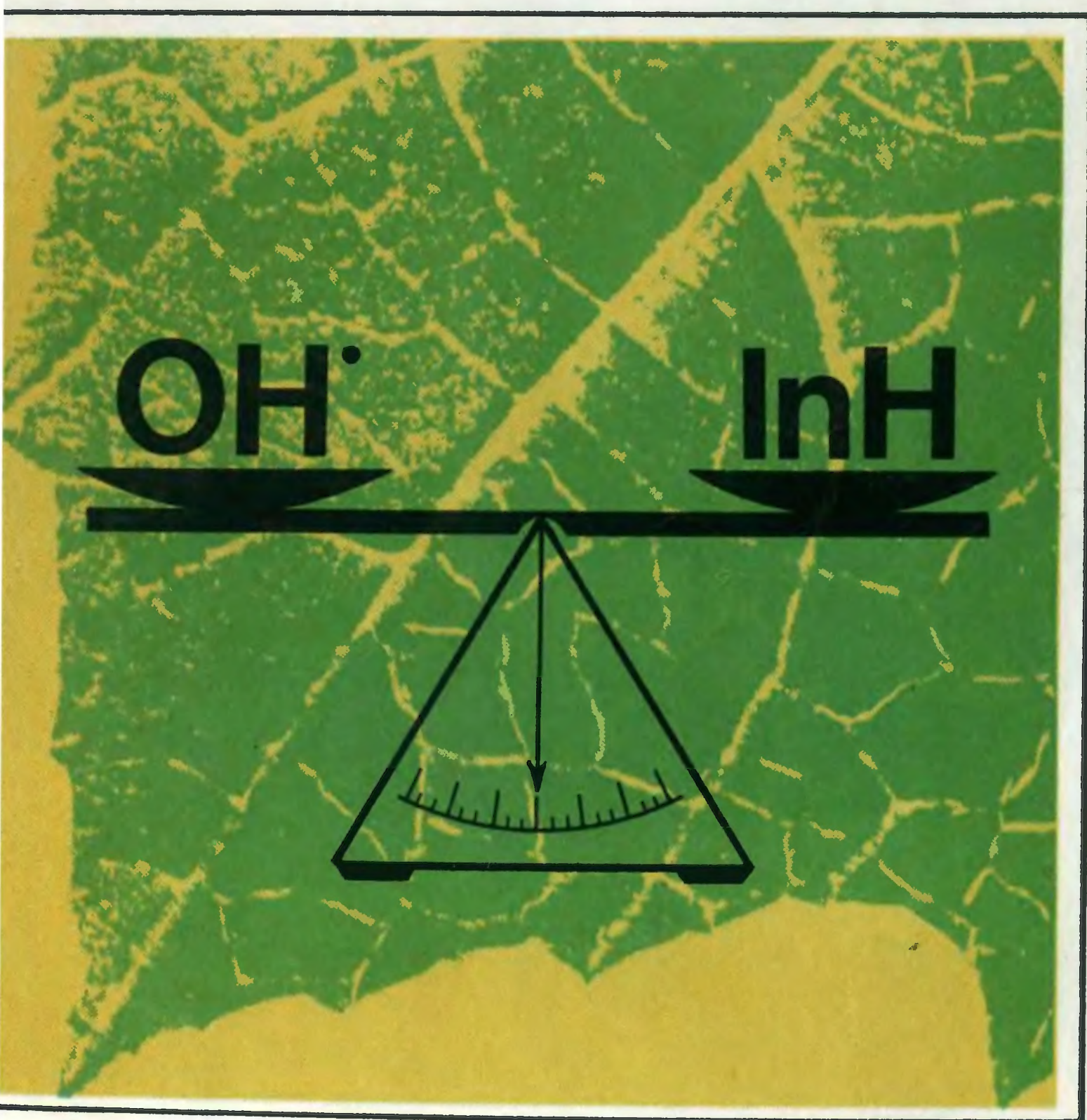


Ж. И. АБРАМОВА, Г. И. ОКСЕНГЕНДЛЕР
**ЧЕЛОВЕК
И ПРОТИВООКИСЛИТЕЛЬНЫЕ
ВЕЩЕСТВА**



ИЗДАТЕЛЬСТВО НАУКА
ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
Серия «От молекулы до организма»

Ж. И. АБРАМОВА, Г. И. ОКСЕНГЕНДЛЕР

ЧЕЛОВЕК
И ПРОТИВООКИСЛИТЕЛЬНЫЕ
ВЕЩЕСТВА



Ленинград
ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
Ленинградское отделение
1985

Абрамова Ж. И., Оксенгендлер Г. И. Человек и противоокислительные вещества. — Л.: Наука, 1985. — 230 с. — (От молекулы до организма).

В книге освещается роль свободнорадикальных (перекисных) механизмов окисления и физиологической антиоксидантной системы в жизнедеятельности здорового человека и при различных заболеваниях. Описаны свободнорадикальные реакции окисления липидов. Приводятся сведения о противоокислительных свойствах ряда витаминов и витаминоподобных веществ, селена, фосфатидов и других биоантиоксидантов, а также о ферментативном звене регуляции процессов перекисного окисления. Большое внимание уделено экспериментальным и клиническим данным об избыточном перекисном окислении липидов и развитии явлений антиоксидантной недостаточности при атеросклерозе, ишемической болезни сердца, неспецифических заболеваниях органов дыхания, при лучевом поражении и отравлениях многими ядами. Обсуждается значимость изменений антиоксидантной активности клетки и организма в целом при злокачественном росте клеток и старении. Специальный раздел посвящен рациональному питанию и отдельным компонентам пищи как источникам природных антиоксидантов, а также влиянию неправильного питания на развитие антиоксидантной недостаточности. В Заключение обобщаются факторы риска, способствующие возникновению состояния антиоксидантной недостаточности организма, и показана практическая значимость применения противоокислительных веществ. Библиогр. 138 назв. Табл. 6. Ил. 7.

Ответственный редактор *И. В. САВАТЕЕВ*

Рецензенты: *Ю. Ф. КРОТОВ* и *В. А. ЦЫРЛИН*

ВВЕДЕНИЕ

В сохранении здоровья населения и предупреждении заболеваний важнейшее значение имеет первичная профилактика, которая охватывает всю жизнь человека, начиная с периода эмбрионального развития. Под ней подразумевается система регламентированных социально-гигиенических мероприятий и личных усилий каждого человека, направленных на укрепление здоровья и повышение неспецифической устойчивости организма путем устранения или ослабления влияния неблагоприятных экологических факторов, образа жизни, неправильного питания и вредных привычек. Разработка конкретных практических рекомендаций по первичной профилактике должна основываться на учете двух ведущих факторов: особенностях окружающей среды и состоянии самого организма. В соответствии с этим, как правило, параллельно разрабатываются два главных способа решения проблемы. Первый — выявление и по возможности устранение опасностей, грозящих организму человека, посредством различных профилактических (гигиенических) мероприятий. Так, успехи современной токсикологии и гигиены позволили выявить многие вредные для человека вещества, провести оценку реальной опасности загрязнения ими окружающей среды, регламентировать их содержание в воздухе, в воде и продуктах питания, разработать действенные меры по обезвреживанию различных токсичных агентов и ограждению человека на производстве и в быту от их действия. Второй способ — воздействие на резистентность организма и его предрасположенность к неблагоприятному влиянию различных вредных факторов внешней среды. В реализации данного способа первичной профилактики ведущее место зани-

мают биохимические механизмы адаптации. При этом перспективным путем такой биохимической профилактики считается управление универсальными процессами повышения устойчивости организма с помощью естественных защитных факторов, в частности природных соединений, близких или тождественных эндогенным веществам, участвующим в поддержании постоянства внутренней среды организма.

Сейчас вполне ясно, что нормальная жизнедеятельность организма не возможна без развитой многоступенчатой системы регуляции и координации различных его функций, осуществляемых специальными веществами — биорегуляторами. На протяжении нашего века были открыты многие биорегуляторы — витамины, стероидные и белковые гормоны, нейромедиаторы, циклические нуклеотиды, простагландины. Огромный интерес ученых к биорегуляторам не только познавательный, но и практический. Ведь в конечном итоге многие болезни рассматриваются как «поломки» в системе регуляции. Если знать строение и функции различных уровней системы регуляции и роль в них отдельных биологически активных веществ, то можно с их помощью «починить» систему. В определенной степени сегодня это осуществляется с помощью витаминов, гормонов, нейромедиаторов, которые стали неотъемлемой частью лекарственного арсенала и многие из которых способны повышать защитно-приспособительные возможности организма. Среди средств такого типа действия видное место занимают противоокислительные вещества, или антиоксиданты.

Изучением роли антиоксидантов (антиокислителей) как биорегуляторов заняты многие научные коллективы в нашей стране и за рубежом. Большой и все возрастающий интерес ученых к этим полифункциональным веществам объясняется прежде всего тем, что они обеспечивают необходимую активность антиокислительной системы — универсальной регулирующей системы организма, контролирующей уровень свободнорадикальных реакций окисления и препятствующей накоплению токсичных продуктов окисления. Антиоксиданты обладают широким спектром физиологического действия, что, очевидно, следует связывать с их участием в различных видах обмена веществ. Другая функция антиоксидантов — модуляторная, т. е. способность изменять активность других регулирующих систем. Это, вероятно, обусловлено

их прямым или косвенным влиянием на синтез и превращение многих биологически активных веществ (аминов, простагландинов, витаминов, гормонов и др.). Кроме того, надо отметить участие антиоксидантов в формировании ряда структурных элементов клетки. В частности, они непосредственно включаются в построение биологических мембран.

Раскрытие роли свободнорадикального окисления структурных липидов биомембран в первичных физико-химических процессах адаптации дало основание к успешному применению антиоксидантов в качестве средств неспецифического повышения устойчивости организма к физическим и химическим экологическим факторам и показало целесообразность их применения в качестве адаптогенов.

Многочисленные работы последних лет показывают, что состояние антиоксидантной недостаточности (так называемая свободнорадикальная патология, или синдром пероксидации) как неспецифическая патофизиологическая реакция способствует развитию различных заболеваний (лучевая болезнь, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца и мозга, некоторые злокачественные новообразования, профессиональные и алиментарные заболевания, бронхиальная астма, отравления и др.). К этому следует добавить гигиенические аспекты использования антиоксидантов в системе мероприятий первичной профилактики. В качестве пищевой добавки природные и синтетические антиоксиданты применяются в производстве различных продуктов питания для предупреждения накопления в последних токсичных чужеродных соединений, а также с целью снижения потерь полезных пищевых веществ (аминокислот, витаминов и др.) при хранении и технологической обработке пищевых продуктов.

Таким образом, с помощью антиоксидантов представляется возможным уменьшить опасность загрязнения внутренней среды организма вредными для здоровья химическими агентами и противодействовать их неблагоприятному влиянию на человека.

На большое научное и практическое значение развития исследований роли антиоксидантов в регуляции процессов жизнедеятельности в норме и патологии указывает создание целевой Всесоюзной комплексной программы «Биоантиоксиданты», которую возглавлял до последнего времени академик Н. М. Эмануэль.

О больших достижениях отечественных ученых в этой области науки свидетельствует присуждение в 1983 г. Государственной премии СССР большой группе ученых во главе с Н. М. Эмануэлем и Б. Н. Тарусовым (А. И. Арчаков, Ю. А. Владимиров, Д. И. Рощупкин, Е. Б. Бурлакова, Е. А. Нейфах, Н. П. Пальмина, Ю. П. Козлов, Ю. Б. Кудряшов, И. И. Иванов, В. Е. Каган) за цикл работ «Физико-химические механизмы свободнорадикального перекисного окисления липидов в биологических мембранах».

В данной книге предпринята попытка изложить современные представления о роли противоокислительных веществ в физиологических, защитно-приспособительных процессах, в развитии распространенных заболеваний, а также при адаптации к воздействиям неблагоприятных физических и химических факторов. При этом авторы не ставили перед собой задачу полного освещения такой большой темы. Ограниченный объем книги и все возрастающий поток информации, касающейся рассматриваемого круга вопросов, дают возможность лишь кратко изложить основные аспекты проблемы «Человек и противоокислительные вещества», заострив внимание на ее общих закономерностях и вопросах, в разработке которых авторы принимали участие.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ, СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ, КИСЛОРОД, АНТИОКСИДАНТЫ

Биологические мембраны и их состав

Биомембраны не только отделяют клетку (а значит — и живой организм в целом) от окружающей среды, но и участвуют в образовании определенных отсеков клетки, являясь необходимым структурным и функциональным элементом всех клеточных органелл. При этом масса мембран может достигать 80% массы клеток. Известный мембранолог член-корреспондент АН СССР Л. Д. Бергельсон, отмечая удивительно высокую прочность мембран на разрыв, их устойчивость, гибкость и исключительные электроизоляционные свойства, обращает внимание на ничтожную толщину биологических мембран — она соответствует всего лишь двум-трем молекулам [10]. А общая площадь мембран достигает в органах и тканях огромной величины. К примеру, масса печени крысы всего 6 г, тогда как суммарная площадь ее клеточных мембран составляет несколько сотен квадратных метров. Вряд ли поэтому вызовет возражение стремление определить понятие «клетка» как систему мембран, ограничивающих участки внутриклеточного пространства. Одним из свойств живых систем является их способность к обмену веществ и энергией с окружающей средой, что обязательно приводит к возникновению разности концентраций веществ во внутриклеточном пространстве и среде, окружающей живую систему. Различие концентраций веществ может в них поддерживаться лишь при условии, что клетки отделены от окружающей среды и друг от друга специальными мембранными структурами с различной степенью проницаемости для разных веществ. С другой стороны, природа сделала мембраны носителями жизненно важных биомолекул и, помимо структурной, наделила их биокаталитической, рецепторной и рядом других функций. В этой связи отметим лишь, что

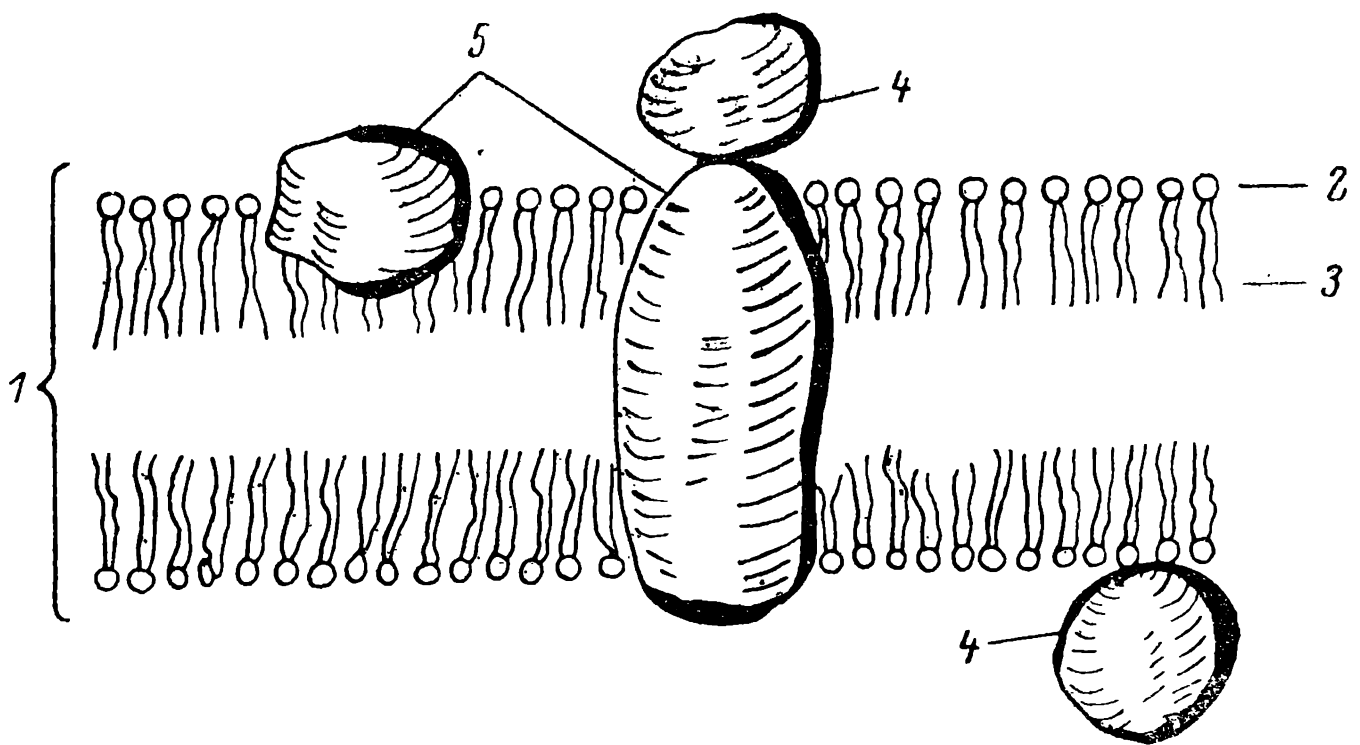


Рис. 1. Модель биологической мембраны.

1 — двойной липидный слой; часть липида: 2 — полярная, 3 — неполярная; белки: 4 — внешние, 5 — внутренние.

В зависимости от специального предназначения клеток входящие в их состав мембраны непосредственно участвуют в генерации нервного импульса (нервные клетки), всасывании и переваривании пищи (клетки желудочно-кишечного тракта), сокращении и расслаблении мышц (клетки миокарда и скелетных мышц), преобразовании одних видов энергии в другие (клетки органов чувств) и др. Неудивительно поэтому, что изменение (повреждение) архитектуры биомембран с неизбежностью влечет за собою те или иные нарушения обменных процессов и физиологических функций в клетках, тканях и в целом организме. Однако многообразие функций биомембран существенно не влияет на их структурную организацию. Все они включают в качестве главных компонентов три типа веществ: липиды, белки и углеводы. Кроме того, мембраны содержат воду и неорганические ионы.

Химическая природа липидов, входящих в состав мембран, различна. Это и фосфолипиды, и гликолипиды, и стероиды, и нейтральные жиры. Но основную массу (55—57%) мембранных липидов составляют фосфолипиды. В дальнейшем мы рассмотрим биологическую роль липидов более подробно, а теперь отметим характерную общую особенность их молекул — они состоят из двух частей, одна из которых несет электрический заряд и является полярной (так называемая головка). Для мембранных липидов наиболее характерно наличие в со-

стае головок производных сахаров (гликолипиды) и фосфорной кислоты (фосфолипиды). Эта часть липидной молекулы гидрофильная, т. е. имеет сродство к воде и смачивается ею. Другая, неполярная часть молекулы, не несущая заряда, — так называемый хвост, или ножка, — состоит из двух алифатических цепей жирных кислот или стероидного скелета (рис. 1). Она гидрофобная (липофильная) и обращена в сторону воздуха, в то время как гидрофильная часть погружена в водную фазу. Благодаря этому свойству биполярных соединений липиды легко взаимодействуют как с полярными, так и с неполярными участками соседних молекул, что создает возможность образования упорядоченных мембранных структур на границе любой среды.

Очень важный липидный компонент мембран — холестерин, о котором также пойдет еще речь в следующих главах. Здесь же необходимо отметить его участие в «упаковке» и обеспечении необходимой подвижности липидных цепей биомембран (рис. 2). Не касаясь химических деталей данного вопроса (подробнее см.: [10]), следует подчеркнуть значение геометрических особенностей молекулы холестерина, в частности жесткость его кольцевых цепей. Эта структурная специфика позволяет холестерину играть роль регулятора надлежащего агрегатного состояния двухслойной липидной части мембран. В зависимости от типа мембраны холестерин обладает двояким эффектом: он может как уплотнять их, так и разжижать, тем самым делая мембраны более или менее подвижными. Кроме того, молекулы холестерина, по-видимому, выполняют роль мембранного амортизатора — они способствуют локализации и затуханию случайных механических нарушений упорядоченности липидных цепей в мембранах.

Дальнейшая организация липидных мембран определяется структурой и свойствами белковых молекул, расположенных на поверхности и внутри мембраны. Внешние (периферические) белки и белковые комплексы электростатически фиксируются на полярной поверхности липидного слоя и способны переходить в цитозоль под действием различных побудительных клеточных механизмов, а внутренние (интегральные) или свободно плавают в липидном бислое (причем большая часть молекулы может быть погружена в мембрану, а меньшая — в окружающую водную среду), или же пропизывают

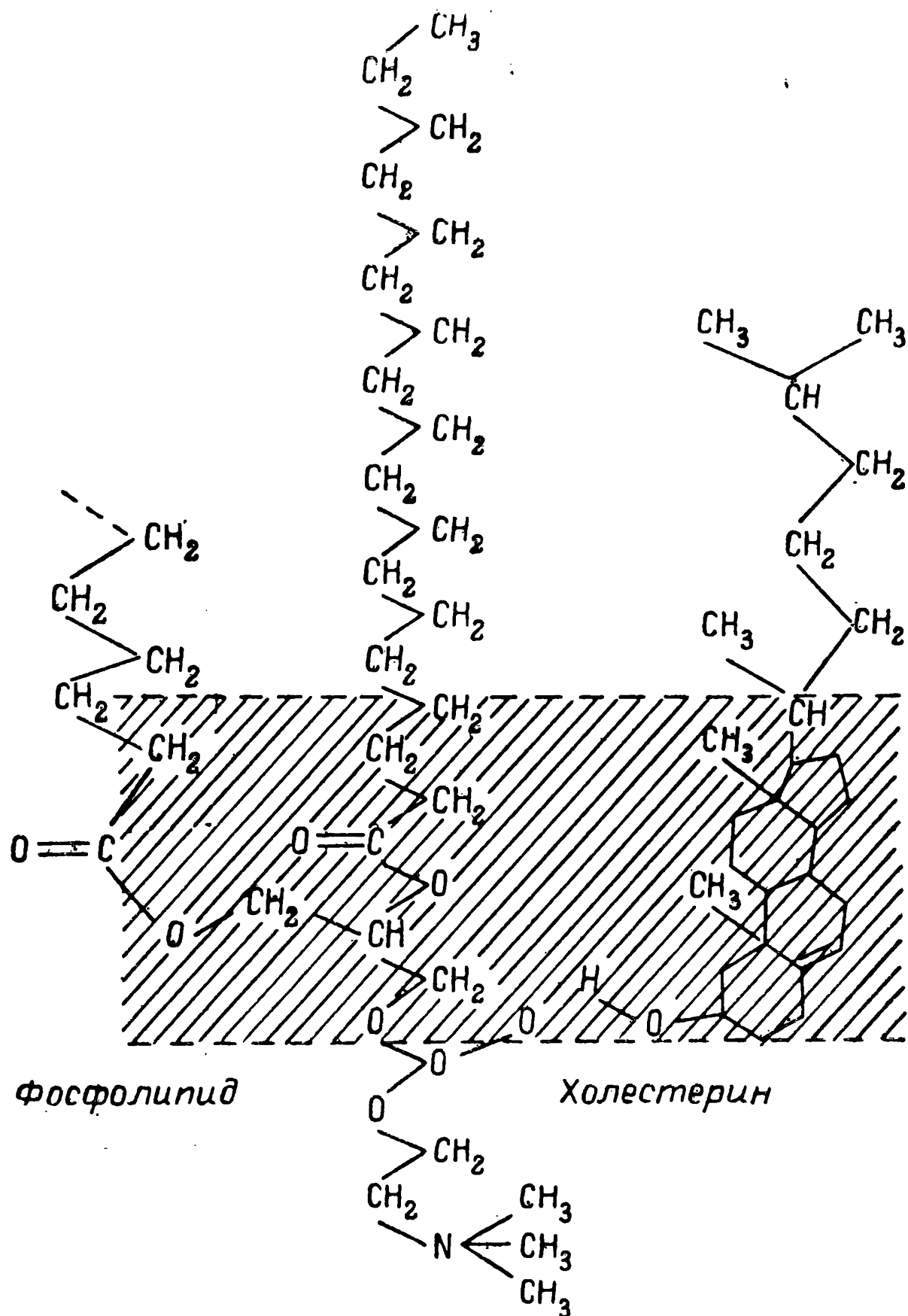


Рис. 2. Взаимная укладка фосфолипида (фосфатидилхолина) и холестерина в двуслойной липидной мембране (по: [10]).

Заштрихована «жесткая» область двойного липидного слоя.

мембрану насквозь. Белки природных мембран, как правило, плохо растворимы в воде, их важная особенность — способность объединяться в комплексы с липидами. Принято рассматривать три основных их функции: структурную, рецепторную и ферментативную. Последняя имеет особое значение, поскольку большая часть мембранных белков — ферменты.

И, наконец, третий компонент биомембран — углеводы. В совокупности с молекулами липидов они обра-

зуют гликолипиды, а с молекулами белков — гликопротеиды. Их углеводные цепи построены из 9 типов простейших сахаров, в том числе глюкозы, галактозы, ксилозы. При этом если каждая молекула гликолипида имеет одну углеводную цепь, то у гликопротеидов их может быть несколько. В свою очередь те и другие в составе мембран за счет своих углеводных (сахарных) остатков образуют так называемый *гликокаликс* — наружное полисахаридное покрытие клеточной поверхности, которое в значительной степени определяет способность клеток принимать химические сигналы и реализовывать межклеточные взаимодействия. Кроме того, гликолипиды и гликопротеиды участвуют в формировании иммунитета, взаимном распознавании клеток и выполняют ряд других функций.

Хотя структурная организация биомембран до конца еще не ясна, все же на протяжении более чем полувека предпринимаются попытки изобразить ее с помощью различных моделей, которые в той или иной степени отражают взаимное расположение мембранных компонентов. В последнее десятилетие наибольшее признание получила универсальная мозаичная, точнее — жидкостно-мозаичная, модель, с помощью которой наилучшим образом удастся объяснить большинство разнообразных функций мембран. Как видно из рис. 1, в основе мембранной матрицы лежит двойной липидный слой, часть поверхности которого покрыта периферическими (внешними) белками, относительно легко отделяющимися от мембран. В некоторых участках мембран в липидную структуру погружены интегральные (внутренние) белки, которые прерывают непрерывный липидный слой. Такого рода структуру часто образно определяют как липидное море, в котором белки плавают как айсберги. В этой связи не следует забывать о структурной и функциональной роли воды в биомембранах, в которых она может находиться в двух состояниях: свободном и иммобилизованном со структурными липопротеидными комплексами. Предполагается, что фиксированные молекулы воды участвуют в процессах связывания на мембранах различных веществ и заряженных частиц. Что касается водной фазы, окружающей мембраны, то с нею непосредственно взаимодействуют полярные группы гидрофильных частей мембранных молекул.

Свободные радикалы

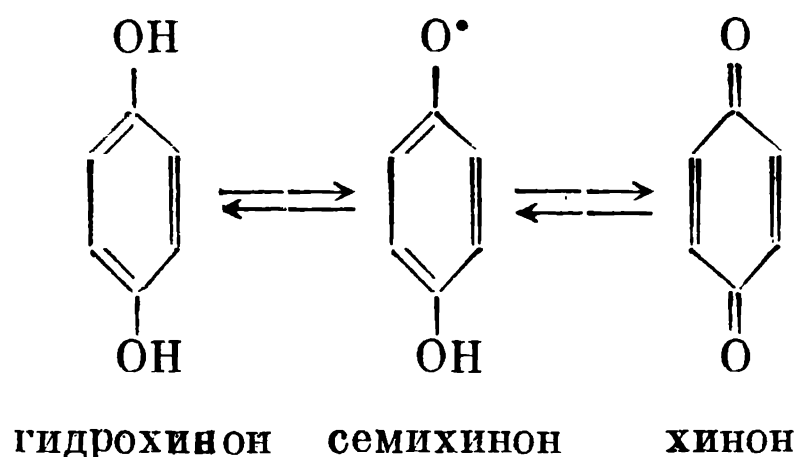
Под *свободным радикалом* (СР) в современной науке принято понимать молекулу или ее часть, имеющую неспаренный электрон на молекулярной или на внешней (валентной) атомной орбите. С химической точки зрения появление неспаренного электрона есть не что иное, как появление у молекулы свободной валентности. Отсюда следует, что СР может образоваться при отщеплении от молекулы того или иного вещества одного атома или группы атомов.

Наличие неспаренного электрона обуславливает высокую химическую активность СР, который, вступая в химические реакции, приобретает недостающий электрон. Каждый неспаренный электрон в радикалах движется по своей орбитали и имеет собственный вращательный момент количества движения (спин). СР с одним неспаренным электроном называется *монорадикалом*, а с двумя — *бирадикалом*. Причем число неспаренных электронов соответствует числу свободных валентных связей. Радикал может нести электрический заряд, и тогда его называют *ион-радикалом*. Это происходит при одноэлектронных окислительно-восстановительных реакциях, когда образуются *анион-* или *катион-радикалы*. Устойчивость радикалов различна: наряду с радикалами, продолжительность жизни которых измеряется сотыми долями секунды (метил, гидроксил), есть относительно устойчивые радикалы, для которых характерно наличие в составе молекулы ароматических колец. Нестабильность радикалов обусловлена, с одной стороны, энергетической целесообразностью их рекомбинации, а с другой — большой их реакционной способностью по отношению ко многим нейтральным молекулам. При этом протекают химические реакции замещения, рекомбинации, присоединения, полимеризации и др. Свободные радикалы образуются, если на вещество воздействуют поток электронов и другие электрически заряженные частицы, например α -частицы, а также γ -лучи, световая энергия. Иногда радикалы образуются как промежуточные продукты (*интермедиаты*) при взаимодействии валентно-насыщенных соединений.

В биологических системах можно выделить несколько типов свободных радикалов. Одни из них образуются в качестве нормальных продуктов обмена веществ, дру-

гие возникают при измененных условиях жизнедеятельности. В числе последних — свободные радикалы воды и органических молекул, образующиеся при действии на клетку ионизирующих и ультрафиолетового излучений, различных токсичных веществ, а также при многих заболеваниях.

О каждой из этих групп свободных радикалов подробно пойдет речь при дальнейшем изложении, а теперь отметим, что при переносе электронов в окислительно-восстановительных реакциях обязательно образуются свободные радикалы как промежуточные формы между окисленным и восстановленным состояниями вещества. Эти процессы протекают в клеточных цепях биологического окисления аналогично окислению гидрохинона до хинона, в основе которого лежит потеря двух электронов. Образующаяся промежуточная радикальная форма была названа семихиноном:



Здесь надо обратить внимание на то, что в радикалы такого типа могут превращаться многие биомолекулы, включающие одно или несколько фенольных колец (т. е. фенольные соединения): дыхательные ферменты (например, флавины и коэнзим Q), витамины, аминокислоты и др.

Наибольшее количество свободных радикалов обнаруживается в тех биологических системах, в которых интенсивность обменных процессов высока. При этом свободные радикалы часто выполняют роль активных центров ферментных молекул, участвующих в биологическом окислении и в тесно взаимосвязанных с ним реакциях освобождения и утилизации энергии, необходимой для основных процессов жизнедеятельности.

Существенно иметь в виду, что в организме человека постоянно протекают свободнорадикальные процессы

аутоокисления¹ органических молекул, причем их интенсивность наиболее высока в липидах, в особенности в фосфолипидах. В обмене веществ обязательно участвуют свободные радикалы. По современным данным, они составляют около 1/4 от общего количества активных частиц нормально функционирующих биологических тканей, что связано с непрерывным протеканием в них свободнорадикального окисления. Но, как теперь уже достоверно установлено, радикальные процессы идут и при любой патологии, причем тому или иному виду заболевания свойственны закономерные и характерные изменения их интенсивности. Вообще многообразие биохимических реакций в большой степени обуславливается способностью свободных радикалов при взаимодействии с различными веществами превращать их также в свободные радикалы.

В связи с этим особое значение имеют *цепные реакции* — химические процессы, протекающие с участием свободных радикалов. Катализаторами таких реакций могут быть как конечные, так и промежуточные их продукты. В химическом смысле цепной реакцией считается процесс, в котором появление одного атома или имеющего свободные валентности радикала вызывает цепь превращений молекул вещества, порождая новые активные свободные радикалы, легко реагирующие с другими молекулами. В цепных реакциях повторяются этапы превращения исходных веществ в конечные. Если в ходе цепной реакции встречаются два свободных радикала, то реакционная цепь обрывается, так как радикалы, взаимодействуя между собой, образуют валентнонасыщенную молекулу, не способную продолжать цепь. С другой стороны, сколько бы раз ни происходили реакции радикалов с нейтральными молекулами, число радикалов не изменится, что находится в соответствии с известным в химии принципом неуничтожимости свободной валентности. В любом химическом цепном процессе принято рассматривать три характерные стадии: реакцию зарождения цепи, ее продолжение и реакцию обрыва цепи, причем в реакции продолжения цепи обязательно сохраняется свободная валентность. Совершенно очевидно, что

¹ Химические (биохимические) реакции называются *аутокаталитическими*, если роль катализатора в них выполняют продукты самой реакции.

Скорость цепного процесса будет зависеть как от количества образующихся свободных радикалов, так и от количества гибнущих радикалов, точнее говоря, от соотношения этих показателей. Вот почему можно ускорить цепной процесс добавлением веществ, содержащих свободные радикалы, или же путем воздействия некоторых физических факторов (например, ионизирующих излучений), способных индуцировать образование этих промежуточных соединений.

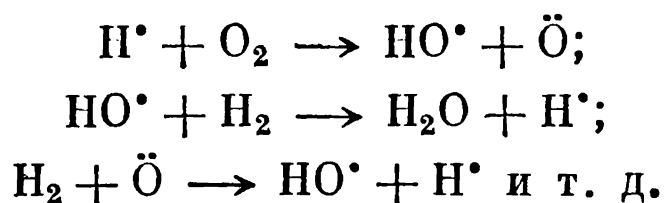
С другой стороны, некоторые вещества, способные взаимодействовать со свободными радикалами, могут образовывать химически инертные соединения, не способные продолжать развитие цепи, что приводит к обрыву цепной реакции. Такие вещества получили общее название *ингибиторов цепного процесса*, и о них в дальнейшем пойдет речь подробно.

В том случае, когда по мере развития цепной реакции на один прореагировавший радикал образуется два или более свободных радикалов, способных к самостоятельному развитию цепи, наступает разветвление цепи. Следовательно, одновременно с продолжением первичной цепи могут идти реакции ее разветвления в нескольких направлениях, и если цепи не обрываются, то может наступить лавинообразное нарастание свободных радикалов вследствие вовлечения в реакцию большой массы исходных молекул.

Типичными в этом отношении являются реакции, возникающие в результате взаимодействия молекул водорода и кислорода. В смеси водорода и кислорода инициирование, т. е. зарождение цепи, обуславливается появлением свободных радикалов по схемам:



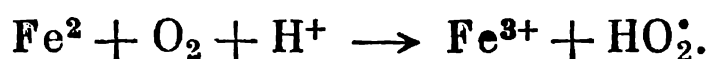
С их участием протекают, далее, разветвленные реакции окисления водорода:



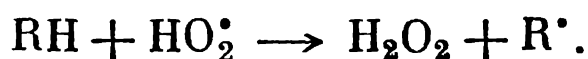
Здесь необходимо отметить, что выдающуюся роль в создании теории радикальноцепных реакций сыграли работы дважды Героя Социалистического Труда, лауреата Ленинской и Нобелевской премий академика Нико-

лая Николаевича Семенова и его школы. За рубежом большой вклад в это направление науки внесли труды Боденштейна, Гиншельвуда, Христиансена и других ученых.

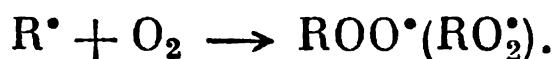
Что касается биологических систем, то важным источником появления в них свободных радикалов служат химические реакции с участием ионов металлов с переменной валентностью. В первую очередь это относится к железу, не включенному в гемоглобин, ферменты и другие биомакромолекулы. Такие свободные атомы железа принято называть внегеминными, или внегемовыми. Например, радикал $\text{HO}_2^\bullet$ (гидропероксид) может быть образован в присутствии водородных ионов при окислении молекулярным кислородом ионов двухвалентного железа по схеме:



Обладая высокой реакционной активностью, такой радикал может реагировать с молекулой окружающей среды (RH), например, молекулой непредельной жирной кислоты, из которой в свою очередь образуется новый радикал:

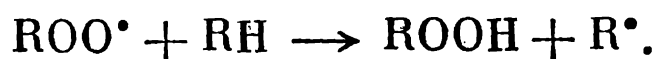


В присутствии кислорода этот радикал, соединяясь с его молекулой, становится источником появления в среде еще одного СР:



Радикал $\text{ROO}^\bullet$ называют *перекисным радикалом*.

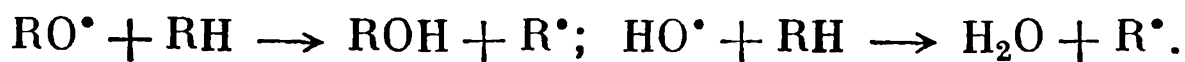
Три последние из приведенных выше реакций принято обозначать как реакции *инициирования цепи*. Если перекисный радикал взаимодействует со следующей химически нейтральной молекулой, то образуется гидроперекись ROOH и вновь появляется радикал $\text{R}^\bullet$:



Эту реакцию называют *реакцией продолжения цепи*.

Понятно, что свободный радикал $\text{R}^\bullet$ может соединиться с новой молекулой кислорода, продолжая окислительную цепь. При этом число радикалов $\text{R}^\bullet$ и $\text{ROO}^\bullet$ остается неизменным, несмотря на вовлечение в процесс новых атомов и молекул, а образовавшаяся гидроперекись

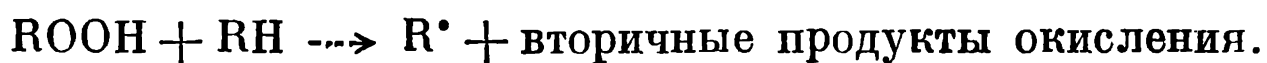
как неустойчивое соединение вступает в различные химические реакции с образованием свободных радикалов $RO^\bullet$ и $HO^\bullet$, которые начинают новые цепи, т. е. разветвляют цепную реакцию. Это можно проиллюстрировать взаимодействием данных радикалов с другими нейтральными молекулами RH :



Появление новых свободных радикалов — инициаторов новых цепей окисления — происходит в биологических тканях очень часто в присутствии ионов Fe^{2+} . Более того, в условиях клетки скорость реакции разветвления цепей в значительной степени зависит от концентрации ионов двухвалентного железа и их локализации в биоструктурах. При этом надо иметь в виду возможность связывания и восстановления ионов железа во внутренних средах организма, в частности посредством их взаимодействия с сульфгидрильными соединениями. Если при разветвлении цепи образуются дополнительные свободные радикалы за счет распада продуктов реакции, то такие разветвленные цепи принято называть *вырожденными*, а сам процесс — *вырожденным разветвлением цепи*. Это, например, происходит при уже упоминавшемся распаде молекулы органической гидроперекиси:



или при ее взаимодействии с исходным веществом:



Цепь реакции обрывается в результате рекомбинации свободного и перекисного радикалов или двух перекисных радикалов.

Поскольку промежуточным продуктом разветвленных цепных реакций являются перекиси и скорость данных реакций зависит от концентрации перекисных радикалов, которые становятся источником новых цепей, то весь этот процесс был назван *перекисным окислением*.

Свободнорадикальное окисление липидов

Особенностью липидов клеточных структур является большое количество в них ненасыщенных соединений: моно- и полиненасыщенных жирных кислот, ненасыщен-

ных алифатических спиртов (сфингозин и др.), ненасыщенных углеводородов (сквален, каротины), полициклических ненасыщенных спиртов гидроароматического ряда (стерины, витамины группы D), ненасыщенных циклических одноатомных спиртов (ретинолы, ксантофилы). В этой связи очень важно подчеркнуть, что наличие в структуре липидов многих ненасыщенных соединений способствует их легкому окислению.

Свободнорадикальное окисление (СРО) липидов тождественно процессам окисления природных и синтетических органических веществ различной степени непереносимости. Из-за особой значимости этого вопроса для понимания биохимической сущности многих физиологических и патологических процессов он заслуживает подробного изложения, и прежде всего потому, что липидные (фосфолипидные) компоненты мембран пространственно ограничивают структуры различных клеточных органелл, внутри которых функционирует большинство известных ферментов. Понятно, что та или иная степень их повреждения с неизбежностью влечет нарушения метаболических процессов. Так, весьма опасно распространение СРО на мембранные липиды лизосом, где действуют десятки ферментов, катализирующих процессы превращения белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов.

При нарушении целостности лизосомальных мембран эти ферменты получают свободный доступ в цитоплазму и, проявляя свои специфические функции, будут разлагать названные биомолекулы.

Основываясь на ранее представленных схемах свободнорадикальных окислительных превращений органических веществ, рассмотрим, как видоизменяется структура ненасыщенных жирных кислот (НЖК) липидных компонентов биомембран в процессе реакций перекисного окисления.

Прежде всего надо отметить, что в основе перекисного окисления липидов (ПОЛ) лежат цепные радикальные процессы с вырожденным разветвлением между кислородом и ненасыщенными соединениями, а само аутоокисление липидов начинается с образования СР как первоначального акта по схеме: $RH \rightarrow R^{\bullet}$. При этом для последующего зарождения и развития с нужной скоростью первичной цепи большое значение имеют не только состав и строение жирных кислот (и других ли-

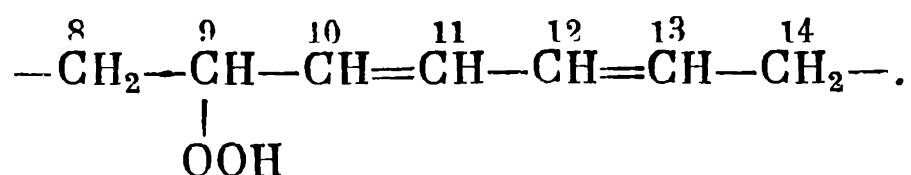
пидов), но и наличие в биофазе как катализаторов, так и ингибиторов свободнорадикальных реакций. Поскольку наиболее лабильными в отношении аутоокисления являются непредельные жирные кислоты, то реакционная способность липидов возрастает с ростом числа двойных связей в молекуле. Как правило, первичным промежуточным продуктом окисления липидов, начинающим цепь окислительных превращений, является перекисный радикал, образующийся при взаимодействии радикала липида с кислородом: $R^{\bullet} + O_2 \rightarrow RO_2^{\bullet}$. Основная реакция перекисного радикала — его взаимодействие с неокисленными молекулами жирной кислоты, главным результатом которого является образование липидной гидроперекиси. Липоперекиси — неустойчивые вещества, они легко подвергаются дальнейшим превращениям с образованием целого ряда более устойчивых вторичных продуктов окисления: альдегидов, кетонов, спиртов, ряда низкомолекулярных кислот (муравьиной, уксусной, масляной), эпоксисоединений и многих других.

В настоящее время уже не вызывает сомнений, что активация ПОЛ в мембранах эндоплазматического ретикулума, митохондриях, лизосомах играет большую (а в ряде случаев — определяющую) роль не только в развитии многих патологических состояний, но и в функционировании нормальных физиологических систем клетки. С процессом перекисного окисления НЖК мембранных фосфолипидов в животных клетках непосредственно связаны скорость клеточного деления, состояние окислительного фосфорилирования, регуляция проницаемости мембран, синтез простагландинов и стероидов, функция многих ферментных систем.

В этой связи представляется важным обратить внимание на положение, сформулированное Ю. А. Владимировым и А. И. Арчаковым [23] еще около 15 лет назад: процесс ПОЛ — не случайность и не исключение, а широко распространенное, универсальное явление, которое постоянно происходит в той или иной мере в любой клетке и в различных мембранных структурах, хотя и с неодинаковой скоростью.

Перекиси НЖК образуются значительно легче, чем перекиси насыщенных кислот. Это обусловлено тем, что скорость процесса пероксидации в значительной мере лимитируется скоростью реакции молекулы жирной кислоты с перекисным радикалом, зависящей от энергии

разрыва связи С—Н, которая уменьшается в молекулах НЖК по сравнению с насыщенными. При этом наименьшая энергия затрачивается на отрыв атома водорода от углерода, находящегося в α -положении по отношению к двойной связи. Особенно легко вступает в такую реакцию дивинилметановая структура непредельных жирных кислот ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}^{\bullet}\text{H}_2-\text{CH}=\text{CH}-$), что приводит к образованию довольно стойких радикалов жирных кислот, которые в присутствии кислорода иницируют свободнорадикальные реакции аутоокисления. Среди различных природных НЖК окисление возрастает в отношении 1:2:4:6:8 с увеличением числа двойных связей от 2 до 6. Большая часть липидных перекисей образуется из жирных кислот с 6, 4 и 2 двойными связями (докозогексаеновая, арахидоновая и линолевая), связанных с α -углеродными атомами фосфолипидов. Важно подчеркнуть, что в молекулах гидроперекисей линолевой, линоленовой и других непредельных жирных кислот при аутоокислении появляются сопряженные, т. е. находящиеся у двух рядом расположенных атомов углерода, двойные связи. Например, в случае линоленовой кислоты соответствующая часть молекулы принимает вид:

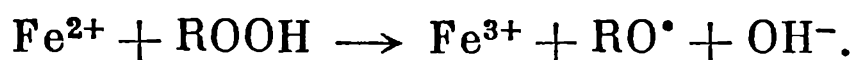


Такие молекулы, получившие название *диеновых конъюгатов*, могут быть обнаружены спектрофотометрическим методом, что является чувствительным тестом на появление в биологическом объекте гидроперекисей полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК).

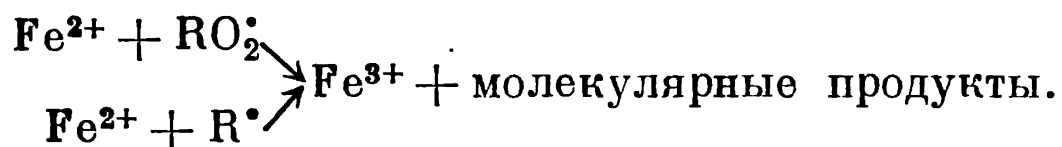
Как уже отмечалось, биохимические механизмы инициации, разветвления и торможения (обрыва) цепных реакций в биологических средах в качестве необходимого компонента включают ионы негемового железа, имеющие неспаренный электрон. При этом реакции образования перекисей, гидроперекисей и радикалов липидов, чередуясь, приводят к тому, что в процесс вовлекаются все новые и новые липидные молекулы и кислород. Тем самым реализуется стадия продолжения цепного окисления, и если бы свободные радикалы реагировали всегда только с новыми молекулами НЖК, то в присутствии достаточного количества кислорода один-единственный радикал

рано или поздно превратил бы в перекиси все жирные кислоты. Но этого не происходит потому, что свободные радикалы реагируют, во-первых, друг с другом и с ионами металлов переменной валентности с образованием стабильных молекулярных продуктов, а во-вторых, — с биоантиоксидантами. И хотя в последнем случае образуются радикалы антиоксидантов, они являются малоактивными и рано или поздно исчезают при встрече с себе подобными или перекисными радикалами.

При разветвлении цепи ионы Fe^{2+} реагируют с гидроперекисями липида согласно уравнению:



В данном случае процесс будет носить самоускоряющийся характер, а сама реакция показывает, что в результате разложения гидроперекиси в биологической системе возникают новые свободные радикалы, способные инициировать новые цепи окисления. Вместе с тем ионы Fe^{2+} в качестве катализаторов способствуют обрыву цепей окисления липидных молекул, когда они реагируют со свободными радикалами:



Таким образом, ионы железа играют очень важную роль на всех стадиях процесса цепного ПОЛ. Небезынтересно, что и во всех модельных опытах ПОЛ воспроизводилось только в присутствии солей двухвалентного железа. Однако Ю. А. Владимиров и А. И. Арчаков [23] подчеркивают, что в конечном счете скорость ПОЛ будет зависеть не только от наличия в системе ионов железа, но и от агентов, осуществляющих его восстановление и связывание, например от SH-групп мембранных белков. При взаимодействии с сульфгидрильными соединениями происходит регенерация Fe^{2+} с образованием дисульфида.

Повреждающее влияние липидных перекисей и свободных радикалов на белки реализуется за счет взаимодействия, во-первых, с SH-группами, а во-вторых, — с NH_2 - и CH_3 -группами белковых молекул. Здесь надо подчеркнуть, что именно эти механизмы влияния на белки и аминокислоты составляют основу инактивирующего действия продуктов ПОЛ на многие ферменты. Надо также иметь в виду, что окисленные липиды могут образовывать комплексы с белками и инициировать

полимеризацию белковых молекул, что в еще большей степени способствует разрушению клеточных структур, в первую очередь мембран.

В одной из недавних работ [54] была предпринята попытка охарактеризовать на молекулярном уровне основные повреждающие и модифицирующие эффекты ПОЛ как результат взаимодействия ненасыщенных жирнокислотных остатков фосфолипидов (например, фосфатидилэтаноламина) липидного бислоя мембран с активными формами кислорода. Образующиеся при этом гидроперекиси фосфолипидов неустойчивы, и их накопление приводит при одновременном уменьшении количества ненасыщенных липидов к увеличению подвижности полипептидной цепи белков, детергентному (т. е. разрушающему гидрофобные связи и облегчающему доступ молекул воды к белкам) действию, а это сопровождается увеличением каталитической активности ферментов. Далее, накапливающиеся в результате ПОЛ окисленные фосфолипиды образуют упорядоченные группы, что становится основой фрагментации и разрушения мембран. Следующий повреждающий эффект ПОЛ состоит в том, что перекиси ПНЖК, диальдегиды и ряд других вторичных продуктов ПОЛ взаимодействуют с N-концевыми остатками белков, аминокислотами и аминоклассами фосфолипидов. При этом образуются конъюгированные соединения — так называемые основания Шиффа, которые обладают большой реакционной способностью и могут производить межмолекулярные «сшивки», а также вступать в реакции полимеризации и поликонденсации. В результате этих реакций теряются присущие биомолекулам функциональные свойства. Примечательно, что продуктом липопероксидации является липофусцин, или цероид, названный «пигментом старости», который откладывается в мембранах нефункционирующих лизосом. Полагают, что этот полимер образуется при взаимодействии продуктов распада фосфолипидов с NH_2 -группами белков. Накопление липофусциновых гранул в клетках — характерный признак антиоксидантной недостаточности.

Кислород и продукты его обмена

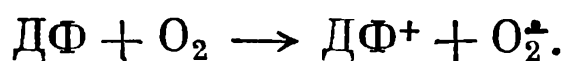
Многообразие процессов биологического окисления с обязательным вовлечением в них кислорода и потенциально высокая его токсичность обуславливают необходимость

более подробного рассмотрения биохимических механизмов кислородного обмена. Эти процессы включают различные реакции превращения и утилизации кислорода. Здесь, во-первых, выделяют окисление многих веществ во внутренней мембране митохондрий клетки (*митохондриальное окисление*), когда кислород используется для образования энергии. Во-вторых, принято особо рассматривать окислительные реакции в эндоплазматическом ретикулуме (*микросомальное окисление*), когда его система транспорта электронов потребляет кислород для пластического обеспечения клетки, что непосредственно связано с превращением в ней многих чужеродных веществ — ксенобиотиков (от *xenos* — чужой, *bios* — жизнь, *греч.*), а также различных продуктов обмена — метаболитов. И наконец, в-третьих, надо иметь в виду свободнорадикальное окисление НЖК в биомембранах и многие другие реакции в субклеточных структурах, приводящие к образованию гидроперекисей и перекиси водорода и протекающие с обязательным потреблением кислорода.

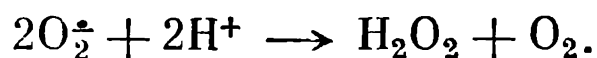
Вспомним, что в наружном электронном слое атома кислорода размещено шесть электронов. В то же время максимальная устойчивость каждого атома, как известно, достигается, когда на его внешней электронной орбите будет либо 2, либо 8 электронов. Если при присоединении электрона к кислороду освобождается 52 кДж на грамм-атом, то для отрыва электрона необходимо, наоборот, затратить 312 кДж на это же количество кислорода. Естественно, что энергетически кислороду более подходит присоединение двух электронов к своим шести. Отсюда становится понятным сильно выраженное свойство кислорода вступать в химическое взаимодействие с другими веществами для восстановления своей наружной орбиты до устойчивого 8-электронного состояния. Однако не надо забывать, что поступает в организм и участвует в биологическом окислении молекулярный, а не атомарный кислород. Молекула кислорода содержит два неспаренных электрона, одновременно принадлежащих двум ее атомам и имеющих одинаково направленные параллельные спины, что придает молекулярному кислороду парамагнитные свойства. Такая молекула по своему строению напоминает свободный радикал, повышенная химическая активность которого обусловлена состоянием возбуждения. Но в отличие от большинства свободных

радикалов молекула кислорода является достаточно стабильной, и этому свойству она обязана именно своим двум неспаренным электронам. Поэтому молекулярный кислород более слабый окислитель, чем атомарный.

Как известно, в физиологических условиях структура редокс-цепей, т. е. путей переноса электронов с окисляемого субстрата на кислород, обеспечивает (главным образом в митохондриях) восстановление почти всех его молекул в безвредные для клетки молекулы воды. Эти электронно-транспортные редокс-цепи, которые совмещают защитную функцию инактивации (восстановления) кислорода с функцией генерации энергии, можно считать, по справедливому замечанию А. И. Журавлева [48], величайшим достижением биологической эволюции. Однако определенная, пусть не столь значительная, часть кислорода в норме все же не подвергается ферментативному восстановлению и включается в свободнорадикальные процессы. Из-за такой его «утечки» могут ускоряться цепные свободнорадикальные реакции окисления. В результате этих реакций одноэлектронного переноса в биофазе возникают реакционноспособные атомы и молекулы — интермедиаты кислорода: супероксидный радикал ($O_2^{\bullet}$), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$), а также синглетный кислород ($^1O_2$). Биохимики рассматривается несколько путей их образования при ферментативных окислительно-восстановительных реакциях. Так, кислород, взаимодействуя с молекулой дыхательного фермента (ДФ), окисляет его с образованием супероксидного радикала:



Далее с ним реагируют движущиеся по дыхательной цепи протоны (ионы водорода), в результате образуется перекись водорода:



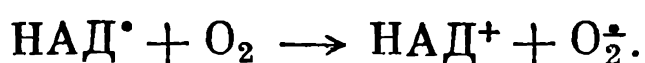
В свою очередь, перекись водорода взаимодействует с супероксидным радикалом и образуется третье вещество этой группы — гидроксильный радикал:



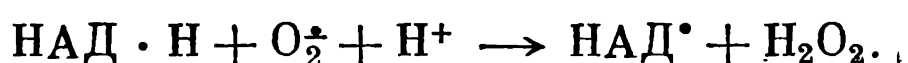
Данная реакция известна в химии как реакция Габера—Вейсса. Такие реакции одноэлектронного переноса

происходят в биологических системах на стадиях зарождения и продолжения цепи. Обычно для них необходимы ионы переходных металлов. К примеру, супероксидный и гидроксильный радикалы, а также перекись водорода участвуют в реакциях энергетического обмена.

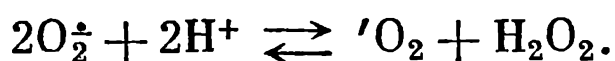
Участие интермедиатов кислорода в метаболических реакциях хорошо иллюстрируется многими схемами окисления и восстановления коферментов. Так, восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотида (НАД·Н) посредством одноэлектронного окисления (или восстановления катиона НАД⁺) переходит в радикал НАД[•]. Когда этот радикал взаимодействует с молекулярным кислородом, то посредством простого переноса электрона образуется супероксидный радикал:



Если же супероксидный радикал будет реагировать с НАД·Н в присутствии ионов водорода, то реакция протекает с образованием перекиси водорода по схеме:



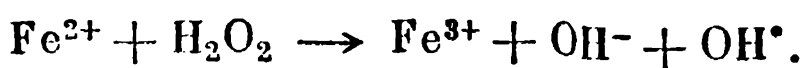
Молекула синглетного кислорода отличается от основной формы кислорода тем, что в ней произошла внутримолекулярная перестройка электронов и возник наиболее высокий энергетический уровень. Одним из путей его образования считается обратимая неферментная реакция взаимодействия супероксидного радикала с протонами, которая дает также перекись водорода:



Но есть и ферментные процессы, сопровождающиеся появлением ¹O₂. Например, синглетный кислород образуется в биохимических реакциях восстановления цитохрома с — одного из дыхательных ферментов.

Из интермедиатов кислорода перекись водорода считается наиболее стабильным веществом и, следовательно, наименее реакционноспособным. Она образуется в организме в результате одно- и двухэлектронного восстановления кислорода, причем в процессе ферментативных реакций нередко одновременно с H₂O₂ образуется и супероксидный радикал. Вообще образование перекиси водорода установлено во всех важнейших субклеточных структурах — эндоплазматическом ретикулуме, митохон-

дриях, пероксисомах, цитозоле. Следовательно, перекись водорода является нормальным метаболитом в кислород-зависимых биологических объектах, где она присутствует всегда в некотором количестве. Ее образование требует больших затрат кислорода (по различным данным, — от 10 до 15% всего потребляемого организмом O_2). В литературе есть данные, указывающие на физиологическое значение перекиси водорода. В частности, подчеркивается ее роль как ускорителя транспорта глюкозы через плазматическую мембрану, а также как участника многих реакций детоксикации чужеродных веществ. В последние десятилетия были получены экспериментальные доказательства возможности аутоинтоксикации (самоотравления) при действии перекиси водорода на биоструктуры, в частности, показано, что она вызывает гемолиз эритроцитов и денатурирует белки. Предполагается, что в молекулярном механизме действия перекиси водорода основную роль играет окисление ею сульфгидрильных соединений и инициирование перекисного окисления ПНЖК. Считается, что перекись водорода опасна скорее потому, что, реагируя с супероксидным радикалом или с внегеминовым железом (Fe^{2+}), она может приводить к образованию гидроксильного радикала (реакция Габера — Вейсса), который обладает чрезвычайной биологической активностью. Тот факт, что супероксидный радикал, реагируя с перекисью водорода, приводит к образованию более мощного окислителя — $OH^\bullet$, еще сильнее подчеркивает его роль в кислородном обмене в живых системах. Если же в реакции с перекисью водорода вместо супероксидного радикала участвует двухвалентный ион железа, то она протекает по схеме:



Поскольку радикал $OH^\bullet$ — самый сильный из известных окислителей, то его образование в этих реакциях становится определяющим фактором токсического действия кислорода. Попутно отметим, что гидроксильный радикал образуется в реакциях радиолиза воды, чем в значительной степени теперь объясняется биологическое действие ионизирующих излучений и в чем, вероятно, надо видеть одну из основных причин сходства радиационных поражений и кислородной интоксикации. Накопление интермедиатов кислорода и их взаимодействие в клетке, при-

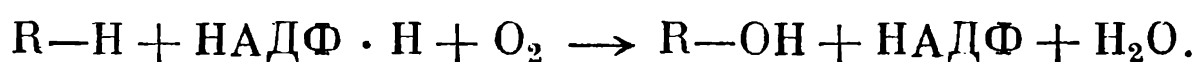
водящее с неизбежностью к появлению радикалов $\text{OH}^\bullet$, обуславливает повреждение жизненно важных белковых, в первую очередь ферментных, структур, и если они легко окисляются, то быстро теряют свою биологическую активность. В числе таких ферментов, подверженных воздействию радикалов $\text{O}_2^\bullet$ и $\text{OH}^\bullet$, — сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза, ксантиноксидаза.

Уже давно было обращено внимание на особую чувствительность к кислороду тех биомолекул, которые включают активные SH-группы. Это связано с легкой окисляемостью сульфгидрильных групп с последующим образованием дисульфидных ($-\text{S}-\text{S}-$) связей. Ясно, что наибольшая опасность для организма проистекает из угнетения функции ферментов (коферментов), в молекулах которых SH-группы выполняют каталитическую роль (липоевая кислота, коэнзим А, глутатион), а также других биомолекул, содержащих атомы железа переменной валентности и SH-группы. В этой связи заслуживает специального рассмотрения каталитическая функция цитохрома Р-450.

Окислительно-восстановительные реакции превращения чужеродных веществ, как установлено в последние 15—20 лет, требуют участия специальных ферментных систем, локализованных в мембранах эндоплазматического ретикулума, из которых сейчас наибольшее значение придается многоцелевой монооксидазной системе со смешанной функцией. Важнейшим ее компонентом является особый белок — цитохром Р-450, широко распространенный в живой природе — от млекопитающих до бактерий и высших растений. Он близок по строению к гемоглобину, в частности содержит атомы железа с переменной валентностью и является конечным звеном в группе окисляющих (гидроксилирующих) микросомальных ферментов, сосредоточенных преимущественно в клетках печени — гепатоцитах. Здесь осуществляется большинство реакций превращения неполярных веществ в более полярные (гидроксилирование) и ПОЛ. Главная функция цитохрома Р-450 заключается в активации молекулярного кислорода, один атом которого внедряется в окисляющееся вещество, а второй служит для образования воды. Отличительная особенность реакции микросомального окисления — необходимость присутствия ионов Fe^{2+} в качестве радикалообразующего центра. Существенно подчеркнуть, что их восстановленное состояние поддер-

живается донорами водорода, в первую очередь коферментом дегидрогеназ — никотинамидадениндинуклеотид-фосфатом (НАДФ·Н) и во вторую — аскорбиновой кислотой. При этом в цикле реакций микросомального окисления с участием цитохрома Р-450 в качестве промежуточных продуктов возникают супероксидные, перекисные и гидроксильные радикалы и соответствующие комплексы трехвалентного железа. Свое название цитохром Р-450 получил из-за того, что его восстановленная форма образует с окисью углерода довольно прочный комплекс, спектральная характеристика которого оценивается максимумом поглощения при 450 нм.

В настоящее время в гидроксилирующей системе печени биохимии выделили еще флавопротеид и третью составную часть — белковую молекулу с негемовым железом. Для того чтобы протекала реакция гидроксилирования чужеродного вещества (R—H), требуется участие НАДФ·Н и кислорода:



Считается, что монооксигеназная система ферментов функционирует по циклическому механизму, включающему несколько этапов. Вначале цитохром Р-450 образует с ксенобиотиком комплексное соединение, которое после этого восстанавливается дегидрогеназой (флавопротеидом), точнее — НАДФ·Н-цитохром-Р-450-редуктазой. Затем это уже восстановленное соединение реагирует с активированным кислородом, в результате чего образуется окисленное и, как правило, гидрофильное вещество. В качестве природного акцептора электронов для флавопротеина служит один из дыхательных ферментов — цитохром *b*₅. Однако цитохром Р-450 не только нейтрализует ксенобиотики, но и может превращать их в химически более активные вещества, например в эпоксидные соединения [61].

Антиоксиданты

Многие процессы окисления органических материалов под действием разнообразных факторов внешней среды протекают по типу неразветвленных и разветвленных цепных реакций. В их числе — термоокислительная и фотоокислительная деструкции полимерных соединений,

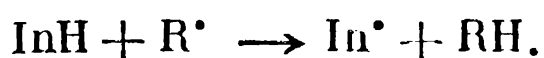
резин, взрывчатых веществ, разрушение моторного топлива, смазочных масел, прогоркание пищевых жиров и др. Отсюда вытекает большая практическая значимость способов предупреждения и ослабления этих процессов с целью стабилизации природных и синтетических материалов и удлинения сроков сохранения их полезных свойств. Это достигается с помощью специальных веществ, получивших общее название *антиоксидантов*, или *антиокислителей*.

Согласно определению [46], под такими веществами понимаются соединения различной химической природы, способные тормозить или устранять СРО органических веществ молекулярным кислородом. Более узкое значение термина «антиоксидант» предполагает вещество, которое вступает в реакцию с окислительными свободными радикалами и тем самым уменьшает их концентрацию в реакционной среде. Надо, однако, заметить, что в науке существуют и другие определения понятия «антиоксидант» («антиокислитель»), что свидетельствует об отсутствии единого мнения по данному вопросу [90].

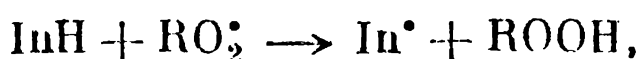
На практике люди давно научились замедлять окислительные процессы. Достаточно вспомнить способы балзамирования трупов, применявшиеся еще древними египтянами. Уже несколько веков известен метод стабилизации медвежьего жира (применявшийся американскими индейцами) путем его нагревания с толченой корой красного ильма. В 1882 г. в США было запатентовано применение коры вяза в качестве антиоксиданта жиров (цит. по: [129]). В последующем для защиты многих пищевых продуктов от окислительной порчи в ряде стран начали широко применять антиоксиданты. В первую очередь эти добавки вводились в жиры и жиросодержащие продукты, поскольку при воздействии кислорода в них образуются токсичные перекисные соединения, способствующие инактивации витаминов и других жизненно важных составных частей пищи. Вообще надо отметить, что в продуктах питания содержатся свои природные антиоксиданты, и чем менее рафинирован продукт, тем их больше. Но, как правило, они мало устойчивы и довольно быстро разрушаются при термической обработке. Поэтому, например, для защиты от окисления пищевых жиров к ним добавляют синтетические антиоксиданты. Что касается промышленного значения таких веществ, то потребность в них резко возросла начиная с первых

десятилетий нашего века в связи с широким применением продуктов переработки нефти (бензины, смазочные масла), природного каучука, достижениями химии высокомолекулярных соединений и созданием разнообразных полимерных материалов (пластмасс, волокон, пленок, тканей и др.), изделий из синтетического каучука. Для увеличения эксплуатационных свойств этих материалов и изделий из них в настоящее время используются различные противоокислительные вещества, дающие огромный экономический эффект и позволяющие сберечь сырьевые ресурсы.

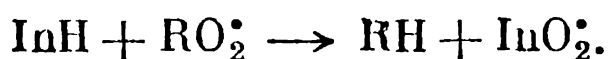
Надо отметить, что основную массу антиокислителей составляют вещества, содержащие подвижный атом водорода с ослабленной связью с углеродом. Они способны взаимодействовать со свободными радикалами. В результате активный радикал, ведущий цепь окисления, заменяется на малоактивный радикал ингибитора ($\text{In}^\bullet$ или $\text{InO}_2^\bullet$), что ускоряет обрыв цепи:



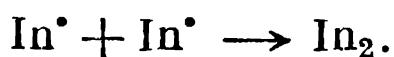
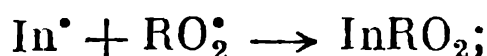
Если антиоксидант-ингибитор взаимодействует с перекисным радикалом, то такая реакция протекает по схеме:



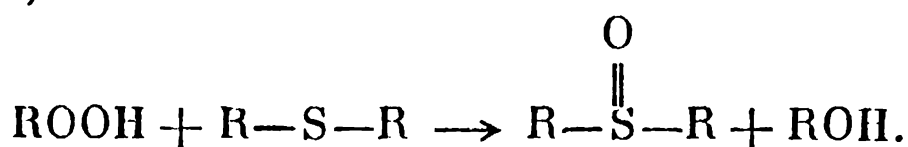
или



Связывание перекисных радикалов в этих реакциях резко ограничивает интенсивность окислительной деструкции различных материалов. Такой защитный эффект антиоксиданта может существенно усиливаться, если его свободные радикалы будут затем реагировать с перекисными соединениями и между собою, образуя химически инертные вещества:



Отдельного упоминания заслуживают антиокислители, реагирующие с гидроперекисями. Наиболее активно эти реакции протекают с участием диалкилсульфида (вещества с общим строением $\text{R}-\text{S}-\text{R}$, например β -меркаптоэтиламина):



В процессе всех этих реакций с большей или меньшей скоростью расходуется антиоксидант. Поэтому важное значение имеет его концентрация: при достаточном количестве ингибитора происходит полная замена свободных радикалов цепи на стабильные и процесс окисления останавливается, а в присутствии меньшего количества ингибитора (ниже его критической концентрации) процесс замедляется, но продолжает оставаться самоускоряющимся.

Наряду с антиоксидантами прямого действия выделяют вещества-синергисты, которые сами не обладают выраженными противоокислительными свойствами, но способны усиливать антиоксидантный эффект. Например, так действуют ряд неорганических и органических кислот и полифосфатов, которые, являясь донорами водорода, восстанавливают окисленную форму антиоксиданта и тем самым замедляют его расходование. Кроме того, кислоты проявляют синергетическое действие в присутствии металлов переменной валентности. Путем связывания ионов металлов в неактивные комплексы кислоты устраняют или уменьшают их каталитическое действие.

Нас, однако, особо должны интересовать те противоокислительные вещества, которые функционируют в живом организме, т. е. биоантиоксиданты, поскольку они играют чрезвычайную роль в защите многих биологических структур от СРО. Эта группа противоокислительных веществ является необходимым компонентом всех тканей и клеток живых организмов, где они в нормальных физиологических концентрациях поддерживают на постоянно низком уровне свободнорадикальные аутоокислительные процессы. Поэтому в тканях живых организмов их расходование и пополнение сбалансированы. Отсюда следует, что «биологический механизм действия биоантиокислителей сводится к смещению конкурентного отношения свободнорадикального и ферментативного окисления в пользу ферментативного, тем самым биоантиокислители регулируют степень подавляющего влияния свободнорадикального окисления на большинство метаболических процессов. Конечным итогом действия биоантиокислителей является создание оптимальных условий для метаболизма и обеспечение нормального роста клеток и тканей» ([47], с. 19).

Биоантиоксиданты принято подразделять на две подгруппы — жирорастворимые и водорастворимые. К пер-

вым относят витамины Е, А, К, стерины, убихинон, а также фосфолипиды.

Водорастворимые биоантиоксиданты — это в первую очередь серосодержащие соединения, витамины С, В₆, РР, а также биогенные амины (серотонин и др.). Приведенные выше общие схемы взаимодействия ингибиторов отражают ход соответствующих реакций с участием биоантиоксидантов. Хотя их радикалы малоактивны, тем не менее их накопление в организме нежелательно.

Оценивая общие свойства биоантиоксидантов, А. И. Журавлев обращает внимание на ряд важных факторов. Это, во-первых, — постоянство уровня суммарной антиоксидантной активности тканей и его индивидуальность для каждого органа, что служит одним из основных показателей постоянства внутренней среды (гомеостаза). Это, во-вторых, — потенцирующее действие биоантиоксидантов при их совместном применении. В этом случае одновременное использование двух антиоксидантов значительно превышает простой суммарный защитный эффект этих же веществ, примененных порознь. Такого рода синергизм можно видеть при совместном применении витаминов С и полифенолов, которое многократно увеличивает их раздельное терапевтическое действие. Вероятнее всего, подобное явление есть следствие взаимного предохранения введенных антиоксидантов от быстрого расходования и наиболее характерно для веществ с различным механизмом действия. К примеру, первый ингибитор, обрывающий цепи, тормозит образование перекисей и тем самым предохраняет от быстрого расходования второй антиоксидант, разрушающий перекисные соединения. В свою очередь последний, разрушая перекиси, уменьшает зарождение цепей и этим сохраняет первый ингибитор. Не исключается также прямое восстановление структуры одного биоантиоксиданта другим, чем обеспечивается многократное участие какого-то из них в противooksидантных актах. Это, наконец, то, что исчезновение из рациона питания или из тканей какого-либо биоантиоксиданта приводит к серьезным нарушениям обмена веществ, которые характеризуются как многими общими, так и некоторыми специфическими для каждого из них симптомами. Тот факт, что после полного истощения тканевых резервов любого биоантиоксиданта исключается его замена другим веществом, свидетельствует о необходимости постоянного поддержа-

ния определенного уровня каждого компонента системы обеспечения антиокислительной активности. Естественно, когда в тканях резко снижается уровень биоантиоксидантов (например, при дефиците витаминов Е, С, селена), в них накапливаются продукты СРО, в первую очередь липидные перекиси, и намного ослабляется устойчивость организма к факторам, активирующим радикальные реакции, — повышенным концентрациям кислорода, ионизирующим излучениям и др. С другой стороны, многочисленные экспериментальные и клинические наблюдения свидетельствуют, что повышение уровня биоантиоксидантов путем их дополнительного введения всегда дает выраженное возрастание устойчивости организма к различным воздействиям, стимулирующим процессы перекисного окисления в биомембранах.

Итак, в тканях организма непрерывно происходит образование свободных радикалов и перекисных соединений органической и неорганической природы. Они участвуют во многих биохимических реакциях. Основным субстратом СРО служат ненасыщенные липиды. Следствием цепной реакции является возрастание продуктов ПОЛ, которые способны вызывать окисление различных биосубстратов и тем самым повреждать белки и липиды биомембран, инактивировать ферменты, изменять структуры макромолекул, целостность клетки и внутриклеточных органелл. Поэтому необходимым условием функционирования клетки является поддержание нормального уровня процессов СРО. Скорость и регуляция ПОЛ осуществляются многокомпонентной антиоксидантной системой (АОС). Последняя обеспечивает связывание и модификацию свободных радикалов, предупреждение образования и разрушения перекисей, экранирование функциональных групп белков и других биомолекул. В состав АОС входят ферменты и природные антиоксиданты, встроенные в структуру мембраны и тормозящие процесс ПОЛ за счет как обменных реакций со свободными радикалами и перекисными соединениями, так и создания более компактной структуры, уменьшающей доступ кислорода к липидам. Соотношение интенсивности СРО и антиокислительной активности (АОА) определяет так называемый антиоксидантный статус клетки, ткани и организма в целом.

В настоящее время доказанным является факт, что при действии на организм человека и животных различ-

ных неблагоприятных факторов химической и физической природы, стрессорных ситуаций чрезмерно усиливаются процессы СРО. В силу цепного, лавинообразного характера процесса ПОЛ становится понятной природа эффекта многократного усиления первичного повреждающего воздействия. Очевидно также, что при этом происходит нарушение стабильности механизмов антиоксидантной защиты. Истощение и срыв различных звеньев АОС во многом определяют характер и интенсивность развития того или иного патологического процесса. Как быстро наступит это истощение, естественно зависит, с одной стороны, от силы и продолжительности действия повреждающего фактора, инициирующего СРО, с другой — от состояния АОС, ее резервов. На функционирование АОС оказывают влияние факторы питания, сезонные и экологические факторы, процессы старения, различные заболевания, воздействие ядовитых веществ. В соответствии с этим при дальнейшем изложении мы попытаемся раскрыть на конкретном материале роль и значение компонентов АОС в физиологических процессах и при патологических состояниях.

Методы изучения свободных радикалов и перекисного окисления в биологических системах

Поскольку свободные радикалы и продукты ПОЛ участвуют в процессах жизнедеятельности и при этом могут быть модифицированы биомолекулы, дезорганизованы биохимические системы и нарушена нормальная структура и функция клеточных органелл, их обнаружение, идентификация и количественная оценка приобретают все возрастающее значение. Интенсивность процесса СРО может быть установлена высокочувствительными физическими, химическими и биохимическими методами. Поэтому целесообразно хотя бы вкратце ознакомиться с соответствующими наиболее распространенными методами, поскольку с их помощью были получены многие из приведенных ниже фактических данных.

ЭПР-спектроскопия является наиболее прямым физическим методом изучения свободных радикалов и представляет собой разновидность магнитной радиоспектроскопии. Сущность метода заключается в том, что мо-

лекулы со свободными радикалами или частицы с неспаренными электронами, образующиеся на первом этапе взаимодействия окисляемой молекулы с кислородом, а также в ходе цепных окислительных реакций при распаде перекисных соединений, обладают парамагнитными свойствами. Регистрация их осуществляется путем определения интенсивности сигнала характерного спектра электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [7].

Хемилюминесцентный метод основан на открытом в 1961 г. Б. Н. Тарусовым и его сотрудниками новом явлении — спонтанном непрерывном сверхслабом свечении тканей и биосред в видимой области спектра, обусловленном липидными структурами. Установлено, что биохемилюминесценция возникает в результате СРО липидов: кванты видимого участка спектра и соответствующие им электронные возбужденные состояния являются продуктами ПОЛ. Повышение спонтанной хемилюминесценции имеет место при усилении процессов ПОЛ, поскольку основным источником хемилюминесценции является реакция рекомбинации перекисных липидных радикалов. В присутствии ингибиторов свободнорадикальных реакций хемилюминесценция ослабляется, так как при этом снижается концентрация перекисных радикалов.

Измерение спонтанного сверхслабого свечения осуществляется хемилюминометрами, в которых в качестве детектора слабых световых потоков служит фотоэлектронный умножитель. Чувствительность метода биохемилюминесценции примерно в 100 раз превышает чувствительность метода ЭПР [58].

Химические методы определения интенсивности СРО липидов являются наиболее распространенными. Они позволяют оценивать диеновую конъюгацию, которая появляется на начальных этапах СРО, накопление гидроперекисей, обнаруживаемых на более поздних этапах, и вторичные продукты окисления — альдегиды, эпоксисоединения и др.

Определение диеновых конъюгатов проводится спектрофотометрическим методом и основано на том, что в ходе перекисного окисления на стадии образования свободных радикалов в молекулах ПНЖК возникают сопряженные двойные связи. Это сопровождается повышением оптической плотности выделенных из биологических объектов растворов липидов в гексане в ультра-

фиолетовой области спектра при длине волны ~ 233 нм [112].

Гидроперекиси липидов определяют чаще методом йодометрического титрования. Он основан на окислении содержащимися в липидах перекисями йодистоводородной кислоты с последующим оттитрованием выделившегося йода тиосульфатом натрия. Для повышения чувствительности метода предложена амперометрическая регистрация точки эквивалентности [82], что позволяет определять в липидных экстрактах содержание перекисей в диапазоне концентраций 0.005—0.5 мкэкв в пробе. Рекомендован также спектрофотометрический метод определения гидроперекисей липидов, который основан на окислении перекисями Fe^{2+} в Fe^{3+} , обнаруживаемый с помощью цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [99].

Об относительном уровне вторичных продуктов окисления часто судят по накоплению малонового диальдегида, который определяют по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [113]. При этом образуется окрашенный триметиновый комплекс с максимумом поглощения при 532 нм.

Определение оснований Шиффа — конъюгированных соединений, которые образуются при взаимодействии ряда продуктов ПОЛ с N-концевыми остатками белков, аминокислот, аминогруппами фосфолипидов. Принцип метода [133] заключается в том, что основания Шиффа имеют хромофорные системы, обладающие флюоресцентными свойствами (максимум возбуждения при ~ 370 нм и эмиссии при ~ 450 нм). Экстракцию продуктов липопероксидации из тканей осуществляют смесью хлороформа с метанолом и с помощью спектрофлуориметра измеряют флюоресценцию.

Привитая сополимеризация [94]. Этот химический метод позволяет оценить реакционную способность свободных радикалов и их относительную концентрацию. Он основан на том, что некоторые ненасыщенные соединения, такие как акриламид, винилпирролидон и др., могут полимеризоваться в присутствии свободных радикалов. Приоритет применения метода привитой сополимеризации в биологических системах принадлежит советским биофизикам Ю. П. Козлову и Б. Н. Тарусову (1958 г.). Для последующего определения привитых сополимеров в клетках используется чаще всего радиомет-

рический метод. Он основан на использовании меченных по ^{14}C или ^3H молекул мономера (акриламида). После сополимеризации со свободными радикалами клеток радиоактивные полимеры остаются там, где они образовались. В последующем гомогенаты исследуемых тканей с меченым веществом анализируют посредством электрофореза и хроматографии и таким образом устанавливают локализацию СРО.

Биохимические методы исследования интенсивности ПОЛ и антиоксидантной обеспеченности основаны на определении в тканях и биосредах активности ферментных (супероксиддисмутаза, церулоплазмин, каталаза, глутатионпероксидаза) и неферментных (витаминов А, Е, С, содержание сульфгидрильных групп, фракций глутатиона) компонентов АОС. Кроме того, часто используются интегральный показатель — АОА липидов биологического объекта, а также биохимические и клинико-физиологические критерии оценки обеспеченности организма витаминами С (например, лингвальный тест) и Е (определение перекисной резистентности эритроцитов) [30].

Глава 2

ПРОТИВООКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА

Токсичность кислорода и различных его интермедиатов, а также озона обусловила необходимость постоянного функционирования в организме специальных механизмов противooksислительной биологической защиты. Эти механизмы направлены в первую очередь на торможение процессов свободнорадикального окисления (СРО) биомолекул. Следовательно, реализующие их вещества являются биохимическим противовесом кислороду, и потому его токсические свойства дают себя знать тогда, когда ослабляется или нарушается направленный против него защитный потенциал.

Еще на ранних стадиях эволюции живых организмов природа создала антиоксидантную биологическую систему

главным образом как средство поддержания постоянства их внутренней среды в условиях нарастающего содержания кислорода в атмосфере. При этом осуществляющие противобоокислительную защиту вещества направлены влияют на структуру и функцию субклеточных образований. Важнейший элемент такого влияния — торможение процесса разрушения биомембран.

Не следует забывать, что любое, даже незначительное увеличение концентрации кислорода во внешней среде сверх 21.9% уже вызывает перенапряжение приспособительных антиоксидантных механизмов, сдерживающие возможности которых не беспредельны. Поэтому функционирующие в организме человека и животных механизмы антиоксидантной защиты играют исключительную роль в поддержании жизнедеятельности и заслуживают отдельного рассмотрения.

Фенольные антиоксиданты

К фенольным соединениям (ФС) относят циклические спирты, у которых имеется бензольное кольцо, содержащее одну или несколько гидроксильных групп. Полифенолами (ПФ) называют соединения, имеющие в ароматическом кольце более одной гидроксильной группы. Только высшие растения и микроорганизмы способны осуществлять синтез ароматического кольца, животные же могут лишь его преобразовывать в различные ароматические соединения. ПФ в растениях находятся преимущественно в форме гликозидов (т. е. в соединении с каким-либо сахаром). Они участвуют в фотосинтезе, дыхании, росте, формировании устойчивости к неблагоприятным экологическим факторам, в том числе к возбудителям инфекционных заболеваний. От содержания отдельных ПФ зависят окраска, аромат и вкус цветов, овощей и плодов.

Известно несколько тысяч фенолов, выделенных из растений. Простейшие из них — мономерные, которые в растениях редко встречаются в свободном состоянии. Значительно больше распространены олиго- и полимерные фенолы, содержащие остатки мономеров. Самая обширная группа среди них — флавоноиды, в молекулах которых бензольные кольца соединены между собой трехуглеродным мостиком. В зависимости от строения последнего и степени его окисленности выделяют 10 групп флавоноидов,

5 из которых включают бесцветные, наиболее восстановленные вещества (катехины, дигидрохалконы, флавонолы и др.). Они легко поддаются окислению, в ходе которого приобретают разную окраску. Например, от степени окислительного превращения катехинов зависит цвет чая: черный, зеленый, желтый. Остальные 5 групп природных флавоноидов — окрашенные соединения, являющиеся основными пигментами листьев, цветов, плодов и ягод. Наиболее распространенными пигментами у высших животных и человека являются меланины, которые определяют цвет глаз, волос, окраску кожи. Они образуются путем свободнорадикальной окислительной полимеризации пирокатехина, диоксииндола, тирозина и других фенольных мономеров. Поэтому меланины можно рассматривать как стабильные радикалы. В организме человека синтезируется ряд биологически активных ФС. Так, медиаторами нервной системы являются производные пирокатехинамина (дофамин, норадреналин, адреналин) и индоламина (серотонин). Фенольными веществами являются также незаменимые для жизнедеятельности аминокислоты — триптофан и фенилаланин (тирозин), витамины Е и К, убихиноны, тиреоидные и стероидные гормоны.

Важнейшим свойством многих ФС является способность к обратимому окислению, т. е. переходу из фенольных форм в хинонные, и восстановлению последних в хиноны. Это обуславливает их участие в окислительно-восстановительных реакциях, в которых они могут быть донорами или акцепторами электронов и протонов. В ходе ступенчатой реакции СРО промежуточными продуктами являются семихинонные радикалы, которые в присутствии легкоокисляющихся веществ проявляют антиокислительный эффект до тех пор, пока полностью не превратятся в хиноны. Вообще, как показывают исследования, только восстановленные (фенольные) формы проявляют антиокислительные свойства, в то время как окисленные (хинонные) формы ФС обладают очень слабой (на 3 порядка ниже) антирадикальной активностью [16]. Важно в связи с этим отметить, что переход биологически активных ФС из фенольных форм в хинонные рассматривается многими исследователями как способ регуляции СРО липидов биомембран. С другой стороны, становится понятным, что накопление фенольных форм природных антиоксидантов выше оптимальных концентраций может интенсифицировать ПОЛ, что, в свою очередь, ускоряет

утилизацию избытка антиоксидантов и приводит к восстановлению исходного стационарного уровня скорости окислительных реакций. Вещества, которые восстанавливают хинонные формы ФС, возвращают последним антиокислительные свойства (в их числе — аскорбиновая кислота). Таким образом, наибольшей биологической активностью обладает наименее стойкий промежуточный продукт трансформации ФС — семихинонный радикал, а присутствие в биофазе двух других компонентов системы (фенола и хинона) обеспечивает воспроизводство радикалов по мере их расходования [9]. В то же время многие ФС наряду с ингибированием свободнорадикальных цепных процессов способны также образовывать стойкие комплексы с некоторыми металлами (железо, медь и др.), которые в определенных условиях становятся катализаторами реакций СРО. Небезынтересно, что ряд ФС (флавоноиды, антоцианы и др.) могут избирательно поглощать световую энергию определенной длины волны, поэтому они (например, меланиновые пигменты) не только придают тот или иной цвет живым организмам, но и поглощают и обезвреживают свободные радикалы, возникающие под влиянием ультрафиолетовых лучей и ионизирующей радиации.

Многие ФС (токоферолы, нафтохиноны, убихиноны) являются естественными антиокислителями у растений и животных. Выраженная антиокислительная активность свойственна флавоноидам (квертицин, рутин и др.). Присутствием токоферолов и других ФС объясняют давно известные выраженные антиокислительные свойства натуральных пряностей и специй: куркумы, черного перца, гвоздики, розмарина, горчицы, тимьяна. Пирокатехин, гидрохинон, пирогаллол и ряд других фенолов стали применяться в качестве антиоксидантов еще в 1932—1935 гг. Известные антиокислительные консервирующие свойства копильного дыма во многом обусловлены содержанием в нем этих ФС. Производными фенолов являются широко применяющиеся в настоящее время в пищевой, а также в фармацевтической и парфюмерной промышленности синтетические антиоксиданты — бутилокситолуол (ионол), бутилоксианизол, галлаты. Например, введение их в масляные растворы витамина А или в косметические кремы позволяют повысить стойкость последних при хранении и увеличить в 1.5—2 раза срок годности. Благодаря способности препятствовать фотоокислительному эффекту

солнечной радиации фенольные антиоксиданты часто вводят в состав эмульсий и кремов, применяемых в качестве средств от загара.

Витамин Е

В настоящее время под общим названием витамин Е объединена группа токоферолов — маслянистых веществ, хорошо растворимых в жирах и органических растворителях, но не растворимых в воде. Они медленно окисляются кислородом воздуха, чувствительны к ультрафиолетовому свету. Токоферолы широко представлены в растительном и животном мире, однако они не синтезируются в организме животных. В основе их химического строения лежит углеродный скелет, известный в химии под названием токола, который включает двухциклическое ядро хромана (бензодегидропирана) и углеводородную (изопреновую) боковую цепь, состоящую из 16 атомов углерода. Очень специфично для молекулы токоферолов наличие одной гидроксильной и одной-трех метильных групп, связанных с углеродными атомами ядра хромана. В зависимости от числа и пространственного расположения метильных групп принято рассматривать восемь токоферолов (α , β , γ и др.), из которых α -токоферол (5,7,8-триметилтокол) является наиболее биологически активным.

Витамин Е имеет разностороннее биологическое значение. При его недостаточности у экспериментальных животных развиваются дегенеративные и дистрофические изменения в скелетных мышцах, миокарде, нервных и печеночных клетках, повышается проницаемость и ломкость капилляров. Весьма характерны при Е-авитаминозе изменения в половой сфере: у животных перерождается эпителий семенных канатиков, тормозится спермообразование и выработка половых гормонов, теряется способность нормального вынашивания плода, у эмбрионов возникают кровоизлияния, может наступить их внутриутробная гибель. Низкая концентрация витамина Е часто обнаруживается в крови новорожденных детей. С этим связывают некоторые детские заболевания, например анемии. Очень опасно для организма ребенка нарушение всасывания жира в кишечнике, а значит, и усвоение токоферола. Специфическим признаком Е-витаминной недостаточности является повышенная чувствительность эритроцитов к перекисному

гемолизу. Вообще же признаки дефицита в организме витамина Е характеризуются обилием биохимических и морфологических нарушений на клеточном и субклеточном уровнях. Все это явилось основанием полагать, что токоферолу присущи многие биохимические функции, и это обуславливает достаточно широкий спектр его терапевтического действия при различных патологических состояниях.¹

По современным представлениям, физиологическая роль витамина Е в основном состоит в его противоокислительном вмешательстве в процессы перекисного окисления в организме, главным образом в те, которые протекают в тканевых липидных структурах. На исключительное значение витамина Е как антиоксиданта было впервые обращено внимание после работ, выполненных в лаборатории профессора Б. А. Кудряшова еще более 20 лет назад. В последующем в ряде зарубежных исследований (в первую очередь в работах американского ученого Таппеля) такой взгляд на биохимическую роль витамина Е получил дальнейшее развитие. Теперь уже накопилось большое число доказательств стабилизирующего действия витамина Е на мембранные структуры, в которых выражены процессы ПОЛ. Но только восстановленные (фенольные) формы, имеющие свободную гидроксильную группу, рассматриваются как ингибиторы свободнорадикальных процессов. Их окисление начинается с отрыва от молекулы водорода с образованием феноксильного радикала, что было доказано методом ЭПР.

В процессе окисления токоферола появляется еще один продукт реакции — токоферилхинон. Биологическая активность того или иного токоферола в значительной степени зависит от его гидрофобной боковой цепи. В частности, изменение ряда свойств токоферолов связывается с варьированием числа изопреновых группировок их молекул. Здесь усматривается важный структурный компонент взаимодействия токоферолов с фосфолипидами мембран:

¹ В качестве лечебного препарата получил распространение уксуснокислый эфир токоферола, который применяется при мышечных дистрофиях, в том числе при миокардиодистрофии, атеросклерозе, ишемической болезни сердца, чешуйчатом лишае, болезнях печени, а также при нарушениях менструального цикла, угрозе прерывания беременности, нарушениях функции половых желез у мужчин. Большое значение имеет лечебное и профилактическое применение препаратов токоферола в педиатрии.

сопоставление длины боковой цепи α -токоферола с размерами жирнокислотных частей («хвостов») фосфолипидов дает основание рассматривать их как структурно соответствующие звенья в процессе специфического включения (встраивания) этой части молекулы токоферола в структуру мембраны, точнее, в ее липидный двойной слой [53].

При накоплении перекисей в биологических системах снижается уровень токоферола вплоть до его полного исчезновения. Особенно активно уменьшают содержание витамина Е в клетках жиры, богатые полиненасыщенными жирными кислотами (например, кукурузное масло). И если уровень линолевой кислоты в рационе животных превышает 2%, то начинает обостряться Е-витаминная недостаточность. Когда же этот показатель превышает 7%, то у животных нарушается функция оплодотворения и происходят другие нежелательные сдвиги, а дополнительное введение препаратов витамина Е в организм предупреждает эти явления. Вообще же противоокислительная роль токоферола сказывается на всех уровнях биологической организации — от субклеточных частиц и мембранных образований до организма в целом. Если к тому же учесть, что на митохондриальные реакции окислительного фосфорилирования влияет концентрация липидных перекисей, то противоокислительное значение токоферола еще более возрастет. Не случайно, по-видимому, природа распорядилась таким образом, что молекулы этого витамина локализованы в основном во внутренних мембранах митохондрий. Многократно было показано корригирующее действие токоферола на нарушенные вследствие липопероксидации окислительно-восстановительные процессы в клетках. Так, если в митохондриях искусственно повысить содержание гидроперекисей линолевой кислоты, то наблюдается разобщение процессов дыхания и фосфорилирования, т. е. резко тормозится выработка энергии в клетке. Но если одновременно с перекисями ввести животным α -токоферол, то это приводит к восстановлению окислительного фосфорилирования.

Заслуживает также рассмотрения влияние токоферола на функции лизосом, включающих многие, прежде всего гидролитические, ферменты. Известно, что процессы перекисного окисления развиваются в лизосомах в несколько раз слабее, чем в других клеточных органеллах. В то же время лизосомальная мембрана очень легко повреждается

различными перекисными соединениями. Вполне естественно поэтому ожидать, что выход лизосомальных ферментов за пределы лизосом может стать источником целого ряда нежелательных биохимических реакций. Показано, что если животных содержать на диете, бедной витамином Е, то у них происходит выраженная активация лизосомальных ферментов. С другой стороны, установлено, что витамин Е отчетливо защищает лизосомы от разрушающего действия перекисеобразующих веществ, а также нормализует биохимические сдвиги при Е-витаминной недостаточности. Что касается механизма этого антиоксидантного влияния токоферола на лизосомы, то теперь предполагается, что он может или прямо взаимодействовать с липидами их мембраны или же предохранять последние от вредного влияния образующихся в других биомембранах липидных перекисей.

Очень ценным свойством токоферола является его способность поддерживать функциональную устойчивость внешней плазматической мембраны клетки. Особенно оно важно для эритроцитов, в наружной мембране которых токоферол присутствует как необходимая составная часть, причем в крови происходит постоянный обмен между этим, мембранным, токоферолом и токоферолом, растворенным в плазме. В настоящее время можно считать доказанным, что токоферол является незаменимым фактором резистентности эритроцитов по отношению к гемолитическим агентам. Если в течение многих месяцев скормливать животным пищу, не содержащую витамина Е, то у них в конце концов развивается выраженная гемолитическая анемия. Многие вещества, вызывающие гемолиз, при своем окислении в организме становятся источником свободных радикалов, которые инициируют перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот и тем самым способствуют разрыхлению эритроцитарных мембран и деградации их фосфолипидов. В конечном счете все это приводит к выходу гемоглобина из эритроцитов в плазму крови. Небезынтересно отметить, что гемолитический эффект усиливается веществами, ускоряющими ПОЛ, и при введении в кровь самих липидных перекисей. В свете изложенного понятна ценность противогемолитических свойств токоферола, который находит все большее применение при разработке фармакологических средств, защищающих эритроцитарные мембраны от повреждающих их химических агентов.

Все сказанное о биологической роли и антиоксидантных свойствах витамина Е дает основание рассматривать его как одно из наиболее значимых защитных веществ в условиях воздействия на организм различных вредоносных факторов и при развитии многих патологических состояний, для которых особенно характерны сдвиги процессов СРО и нарушения структуры и функции липидов (липопротеидов) мембран.

Убихинон

Довольно близко по химическому строению к витамину Е стоят убихиноны — производные 5-метил-2,3-диметоксибензохинона. Их боковая цепь состоит из разного числа (от 1 до 10) изопреновых единиц. Убихиноны были открыты сравнительно недавно — в 50-х годах текущего столетия. Они имеют еще одно название — коэнзим Q, причем каждый из них обозначают цифровым индексом внизу, указывающим количество изопреноидных единиц в боковой цепи. Наиболее изучены каталитические свойства коэнзима Q₁₀. Достоверно установлено, что убихиноны содержатся во всех клетках и необходимы для протекания в них процессов окисления. С этой точки зрения, а также потому, что они действуют в ничтожно малых количествах, их причисляют также и к витаминам. Биологическое действие убихинонов как коферментов основано на способности к обратимым окислительно-восстановительным реакциям, в том числе и одноэлектронным, с образованием семихинонов. Убихиноны локализованы преимущественно во внутренней мембране митохондрий. Их роль особенно значительна в процессах переноса электронов по дыхательной цепи. В частности, доказана их электронно-транспортная функция на участке между флавиновым ферментом и цитохромами.

Рядом экспериментов было показано, что коэнзим Q оказывает положительное влияние на подопытных животных при Е-авитаминозе. Кроме того, при патологических состояниях, при которых в организме резко снижается содержание витамина Е (например, при мышечных дистрофиях), одновременно также уменьшается содержание убихинонов. Это дало основание полагать, что последние проявляют свойства токоферола. По своему защитному механизму убихиноны также сходны с токоферолами, т. е.

это антирадикальные ингибиторы фенольного типа, химизм действия которых состоит в отдаче подвижного водорода свободному радикалу. Следовательно, они непосредственно реагируют с перекисными радикалами на стадии обрыва цепей, уменьшая их концентрацию в мембранах. Антиоксидантная активность убихинона оказалась в эксперименте сопоставимой с активностью токоферола, в особенности по свойству блокировать перекисные соединения. Тем самым убихинон, как и токоферол, участвует в процессе стабилизации митохондриальных липидов, а его количество в мембранах митохондрий на целый порядок превышает количество токоферола. В лаборатории Б. Н. Тарусова при изучении кинетики расходования убихинона и токоферола в опытах по их совместному окислению в линоленовой кислоте было установлено, что в первую очередь расходуется токоферол, и только после того, как израсходуется значительная его часть, наблюдается изменение количества убихинона. Преимущественное расходование токоферола наблюдалось также в микросомах и митохондриях гепатоцитов крыс после их облучения мощной дозой рентгеновских лучей. При этом количество убихинона в клетках долгое время оставалось неизменным. Таким образом, токоферол осуществляет первичную защиту от перекисного окисления, убихинон же в этих реакциях участвует на более глубоких стадиях процесса.

Эстрогены

В настоящее время при рассмотрении физиологических механизмов действия женских половых гормонов и путей регуляции внутриклеточных биохимических процессов все большее внимание уделяется их мембранным эффектам. В силу своей липидофильности стероидные гормоны обладают мембранотропными свойствами. Поэтому они могут накапливаться в биомембранах и непосредственно влиять на их структуру и функцию. В серии работ, выполненных в лаборатории П. В. Сергеева [106] на различных модельных системах, показано, что эстрогены, в молекуле которых имеется ароматическое кольцо с гидроксильной группой в С₃-положении, являются сильными ингибиторами ПОЛ. Механизм их действия подобен фенольным антиоксидантам (α -токоферолу и др.) и обусловлен антирадикальной активностью. Например, в опытах с мембранами

митохондрий, выделенных из гепатоцитов крыс, в которых ПОЛ инициировалось ионами Fe^{2+} , в присутствии женских половых гормонов и их синтетических аналогов задерживалась хемилюминесценция. В то же время другие стероидные гормоны — андрогены и глюкокортикоиды — были неэффективны. Другим подтверждением антиоксидантной активности эстрогенов служат данные о том, что интенсивность ПОЛ в микросомах, инициированная γ -облучением, значительно ниже при введении в систему эстрогенов. Одновременно в клеточных органеллах констатируется меньшее снижение уровня цитохрома Р-450. И в этих опытах андрогены не проявляли защитный эффект. Заслуживают внимания также результаты исследования процессов ПОЛ в мембранах митохондрий, выделенных из печени крыс, находящихся на разных стадиях эстрального цикла. Оказалось, что активность ПОЛ достоверно выше в периоды цикла, когда концентрация эстрогенов в организме относительно низка. И наоборот, если биосинтез и циркуляция эстрогенов повышены, то интенсивность ПОЛ ослабляется. Таким образом, в сложной многоступенчатой антиоксидантной системе имеется гормональное звено. Отсюда становится очевидным влияние собственного гормонального фона на активность ПОЛ. Говоря о влиянии эстрогенов на процессы ПОЛ в биомембранах, нельзя не остановиться на некоторых прикладных аспектах, связанных с этим феноменом. Заслуживает внимания высказанное П. В. Сергеевым предположение, что известные клиницистам противоопухолевые свойства стероидных гормонов могут определяться их способностью ингибировать процессы ПОЛ в мембранах. Большой интерес представляет и вырисовывающаяся роль эстрогенов в регуляции процессов микросомального окисления. Подобно холестерину, жирным кислотам, многим лекарствам и другим гидрофобным соединениям, стероидные гормоны подвергаются окислительным превращениям по монооксигеназному типу с участием НАДФ-зависимой редокс-системы и цитохрома Р-450. Однако эстрогены не только окисляются в этой системе, но и поддерживают ее активность. Влияя на процессы ПОЛ, они способны изменять функционирование локализованных в мембранах ферментов, что подтверждает факт снижения уровня цитохрома Р-450 и скорости окисления ряда лекарств у кастрированных крыс. Очевидно, при патологических состояниях, сопровождающихся чрезмерным усилением процессов ПОЛ, эст-

рогены могут противодействовать повреждению биомембран и, в частности, предупреждать нарушение микросомального окисления стероидных гормонов, холестерина и многих других веществ. Вместе с тем половые гормоны могут также влиять на активность монооксигеназных ферментов опосредованно, включаясь в нейроэндокринные механизмы регуляции их деятельности.

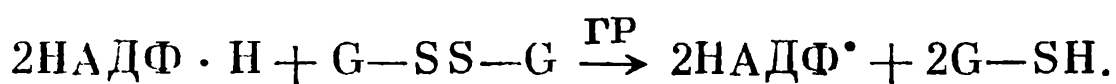
Серосодержащие соединения

Все живые организмы нуждаются в сере. У высших животных и человека потребность в сере удовлетворяется за счет трех основных аминокислот: цистеина, цистина и метионина, из которых затем при их превращении образуются разнообразные серосодержащие вещества, необходимые для нормального развития и жизнедеятельности организма. Из всех серосодержащих аминокислот наибольшее значение имеет метионин, который относится к числу незаменимых факторов питания. При его недостаточности в рационе возникают дегенеративные изменения в печени, поджелудочной железе, легких, отмечаются атрофия и некроз ткани семенников, выраженные изменения в эндокринных железах и кроветворных органах. Важным свойством метионина является превращение его в цистеин и цистин, которые входят в состав белков, активных центров ферментов и ряда гормонов (инсулин, окситоцин и др.), а также служат предшественниками глутатиона, коэнзима А и некоторых других биологически активных сероорганических соединений. Эти биомолекулы, включающие SH-группы, обеспечивают функционирование одного из основных механизмов антиокислительной системы.

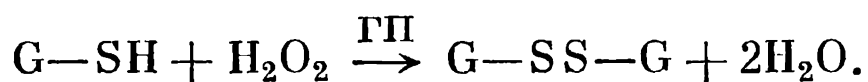
Почти универсальное распространение в тканях животных, растений и микроорганизмов имеет глутатион — трипептид, образованный аминокислотами: цистеином, глутаминовой кислотой и глицином. Глутатион присутствует в организме как в окисленной ($G-SS-G$), так и в восстановленной ($G-SH$) форме и представляет собою основной клеточный фонд мобильных сульфгидрильных групп, так как окисленная его форма (глутатиондисульфид) составляет всего 1—3% общего его количества.

Антиоксидантное действие глутатиона катализируется специальными ферментами, в их числе глутатионпероксидаза (ГП), глутатионредуктаза (ГР), глутатион-S-транс-

фермента. Первая из них функционирует главным образом в цитозоле клетки и участвует в окислении как самого глутатиона, так и перекиси водорода и органических перекисей. Именно ГП, по-видимому, играет основную роль в инактивации липидных гидроперекисей. Любопытно, что молекула ГП содержит атомы селена, антиоксидантные свойства которого мы рассмотрим отдельно. Второй фермент локализован в основном там же и имеет главным назначением поддержание достаточного уровня активного глутатиона посредством восстановления его дисульфидной формы. При этом глутатионредуктаза функционирует при наличии в биофазе доноров водорода. Таким ее субстратом является кофермент НАДФ·Н, с участием которого катализируется восстановление глутатиона:



И, наконец, третий из названных ферментов функционирует в основном в гепатоцитах; он предназначен для детоксикации ряда соединений посредством переноса на них атомов серы с последующим образованием меркаптидов — соединений серы с металлами, меркаптуровых кислот, а также глутатионпроизводных чужеродных веществ. В качестве иллюстрации противоокислительного действия глутатиона приведем схему его реакции с перекисью водорода, где участвует ГП:



Следовательно, разложение перекиси происходит с одновременным окислением глутатиона. В данной связи надо отметить, что восстановленный глутатион при участии ГП осуществляет защиту эритроцитов от гемолитического распада, происходящего под влиянием перекиси водорода и липидных перекисей. При этом инактивация и разрушение последних обеспечивают стабилизацию мембран эритроцитарных клеток.

В связи с изложенным заслуживают рассмотрения антиоксидантные свойства липоевой (6,8-дитиооктановой) кислоты, по биохимическому действию близкой к витамину В₁. Липоевая кислота и ее амид (липамид) участвуют в процессе биологического окисления в липидном и углеводном обмене в качестве кофермента коэнзима А, влияют на обмен холестерина, снижая его уровень в крови, проявляют липотропный эффект, в частности предупреж-

дают ожирение печени. Особенно их много в печени, сердце и почках. Обнаружено антидотное действие этих веществ при отравлении ртутью, мышьяком, кадмием. Липоевую кислоту получают синтетическим путем и применяют при атеросклерозе, ишемической болезни сердца, заболеваниях печени (гепатиты, циррозы), различных интоксикациях. Поступив в кровоток, липоевая кислота (липамид) легко восстанавливается в дигидролипоевую кислоту (дигидролипамид). Тем самым она функционирует как окислительно-восстановительная система. В нашей лаборатории в опытах *in vitro*, а также в острых и подострых опытах на различных животных была обнаружена способность липоевой кислоты и липамида защищать молекулы гемоглобина от окислительного разрушения при воздействии нитрита натрия, гидроксиламина и анилина и восстанавливать метгемоглобин. В частности, антиоксидантный эффект липамида был выше, чем у цистина и цистамина, и приближался к защитному действию селенита натрия [5].

Такими образом, сульфгидрильные биомолекулы, выполняя специфические функции в обмене веществ, являются в то же время важнейшим инструментом против-окислительной системы.

Селен

Селен (Se) является незаменимым фактором питания. С явлениями недостаточности Se связаны такие заболевания, как токсическая дистрофия печени, экссудативный диатез, мышечная дистрофия, энцефаломалация (размягчение мозга). Животноводство многих стран несет большие убытки из-за низкого содержания Se в кормовых продуктах. Причиной дефицита Se в растениях и у животных может быть низкое его содержание в почве (например, в почвах вулканического происхождения) либо нарушение усвоения его растениями. В настоящее время выявлены биогеохимические регионы как с высоким, так и с низким содержанием Se в почвах и растениях, где наблюдаются эндемические заболевания у животных, связанные с избыточным или недостаточным потреблением селена [42].

По строению атом селена во многом подобен сере. В различных соединениях селен, как и сера, может быть

отрицательно двухвалентным или положительно четырех- и шестивалентным.

При недостатке Se в рационе у животных возникают изменения, во многом напоминающие экспериментальный Е-авитаминоз: задержка роста, бесплодие, дегенеративные и дистрофические изменения в миокарде и скелетных мышцах (беломышечная болезнь), в нервных клетках печени, почках, других внутренних органах, семенниках, повышенная проницаемость капилляров и др. Так, беломышечная болезнь и токсическая дистрофия печени возникают у сельскохозяйственных животных при поедании недоброкачественных прогорклых кормов, содержащих окисленные жиры, например рыбную муку. При этих заболеваниях селен и витамин Е оказывают благоприятное влияние.

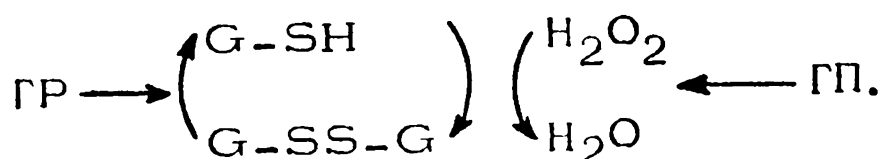
Радиоизотопным методом установлено, что ^{75}Se включается в различные клеточные и внеклеточные структуры. Особенно быстро он соединяется с белками гепатоцитов. Больше всего меченого Se обнаруживается в белках с высоким содержанием цистина. Полагают, что при этом происходит образование селенотрисульфидов, которые, подобно SH-группам мембранных белков, регулируют стабильность и проницаемость биомембран.

Селен находится в липопротеидах плазмы крови и в форменных элементах. Он обнаружен также в тканевых белках.

Еще в 1951 г. из гидролизата свиной почки было выделено вещество, которое проявляло лечебный эффект при некрозе печени у белых крыс, содержащихся на рационе, дефицитном в отношении цистина. Оказалось, что это вещество, названное «фактором 3», включает Se. В конце 1957 г. появилось сообщение (цит. по: [42]) о том, что с помощью селена излечивается некроз печени у животных при Е-авитаминозе, причем эффективность одного атома селена приравнивалась к 1000 молекул витамина Е. В начале 70-х годов была установлена идентичность «фактора 3» с ГП. Было показано, что молекула ГП содержит 4 атома Se. При недостаточности последнего в рационе у животных резко снижается уровень этого фермента в печени и эритроцитах. Так, была найдена ферментная система, функция которой связана с селеном, и более понятными стали механизм его антиокислительного эффекта и сущность его биохимической взаимосвязи с витамином Е.

Антиокислительное действие восстановленного глутатиона и роль ГП наглядно видны при рассмотрении механизма защиты эритроцитов от токсического действия кислорода.

При аутоокислении гемоглобина в метгемоглобин образуется супероксидный радикал ($O_2^{\cdot}$). Дисмутация его осуществляется с помощью супероксиддисмутазы (СОД), а образующийся пероксид водорода разрушается каталазой, а также восстановленным глутатионом:



При дефиците Se и понижении активности ГП наблюдается повышение гемолиза эритроцитов в результате повреждающего действия на мембраны H_2O_2 и липопероксидов. Таким образом, механизм антиокислительного действия в данном случае заключается в образовании глутатионпероксидазной системы, разрушающей пероксиды и тем предотвращающей процесс окислительного распада клеточных мембран.

ГП в отличие от других ферментов антиокислительной защиты находится главным образом в цитозоле клетки. Относительно высока активность ГП в лейкоцитах (гранулоцитах) и тромбоцитах. Наиболее высокой оказалась активность ГП в печени, в сердечной мышце и почках она ниже. Неодинакова активность ГП в различных отделах желудочно-кишечного тракта. Наивысшей активностью обладает слизистая оболочка желудка. Полагают, что фермент участвует в детоксикации как пищевых перекисных соединений, так и образующихся в желудке.

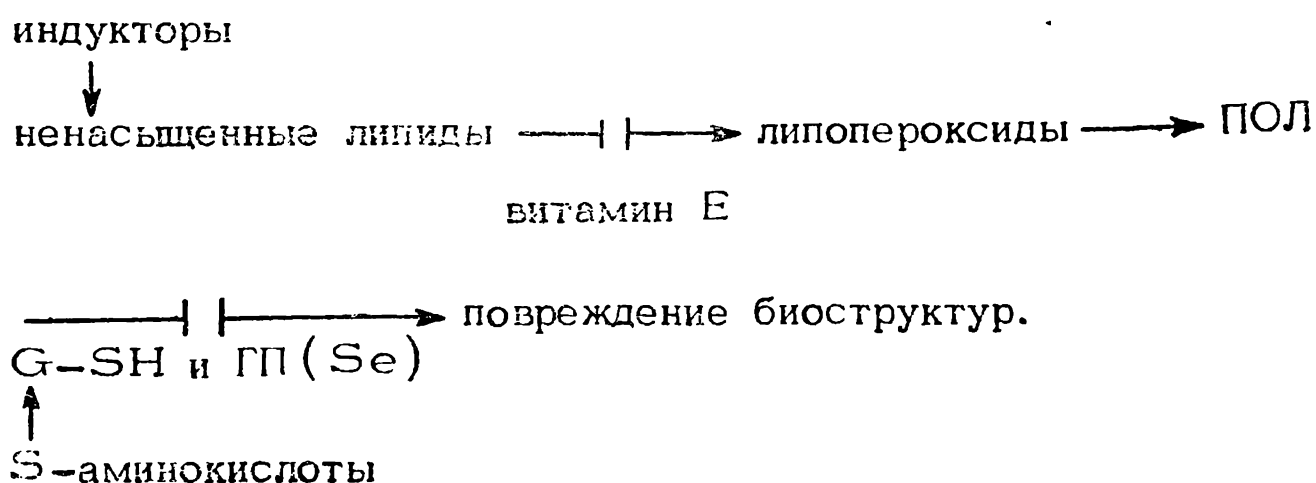
На активность ГП, помимо содержания Se в пищевом рационе, влияет также уровень поступления витаминов А и С, которые способствуют усвоению Se, его транспорту и утилизации в ферменте. Здесь уместно отметить, что Se участвует в фотохимических реакциях, связанных с функцией зрения. Полагают, что глутатионпероксидазная система, входя в состав фоторецепторов пигментного слоя сетчатки, влияет на интенсивность фотоиндуцированных свободнорадикальных механизмов светочувствительности глаза.

В процессе обмена веществ возникают определенные взаимоотношения между селеном, витамином Е и серосодержащими аминокислотами как компонентами антиокис-

лительной системы. Взаимосвязь этих трех незаменимых факторов питания особенно четко проявляется при их дефиците в рационе животных. Установлено, что у животных, получавших корм с недостаточным содержанием витамина Е, понижено содержание селенидов в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме печени. Добавление в корм витамина Е восстанавливает их уровень в этих органеллах. Полагают, что витамин Е предохраняет селениды от окисления. С другой стороны, многими исследованиями доказано витамин-Е-сберегающее действие Se, которое наиболее демонстративно проявляется у животных с Е-авитаминозом. Показано, что при Е-дефицитном рационе добавление в корм селена в значительной мере предотвращает накопление липопероксидов в тканях. При этом в модельных опытах с тканями животных с признаками Е-авитаминоза добавление селенита тормозит накопление липоперекисей. При включении в рацион селена устраняются или предупреждаются многие симптомы Е-витаминной недостаточности: беломышечная болезнь, некроз и ожирение печени, экссудативный диатез.

Se тесно связан с обменом метионина и цистина, противодействующих развитию Е-гиповитаминоза. С помощью меченого метионина показано, что Se и витамин Е активируют превращение метионина в цистеин, и это сопровождается активацией синтеза глутатиона.

Функциональную взаимосвязь антиокислительного действия Se, витамина Е и серосодержащих аминокислот можно представить в виде следующей схемы:



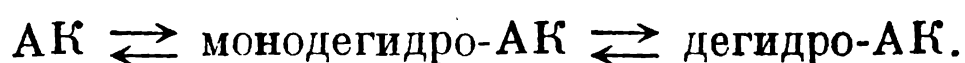
Из схемы видно, что витамин Е ингибирует образование липопероксидов и прерывает цепь СРО, нейтрализуя свободные радикалы в момент их возникновения. Восстановленный глутатион и селеносодержащая ГП превращают образующиеся при ПОЛ липопероксиды в менее токсичные окискислоты, предотвращая повреждение биострук-

тур. При этом пополнение фонда глутатиона осуществляют серосодержащие аминокислоты.

Что касается противоокислительного действия селена и содержащих его препаратов, то об этом пойдет речь в следующих главах.

Витамин С

Витамин С (L-аскорбиновая кислота, аскорбат) активно участвует в различных сторонах обмена веществ, что и определяет его исключительно широкий спектр действия и множество показаний к применению здоровыми и больными людьми. Аскорбиновая кислота (АК) является восстановителем благодаря наличию в молекуле энольной группировки. Как хороший донор электронов, она легко окисляется различными окислителями. Одно из основных свойств витамина С — способность к обратимым окислительно-восстановительным превращениям по схеме:

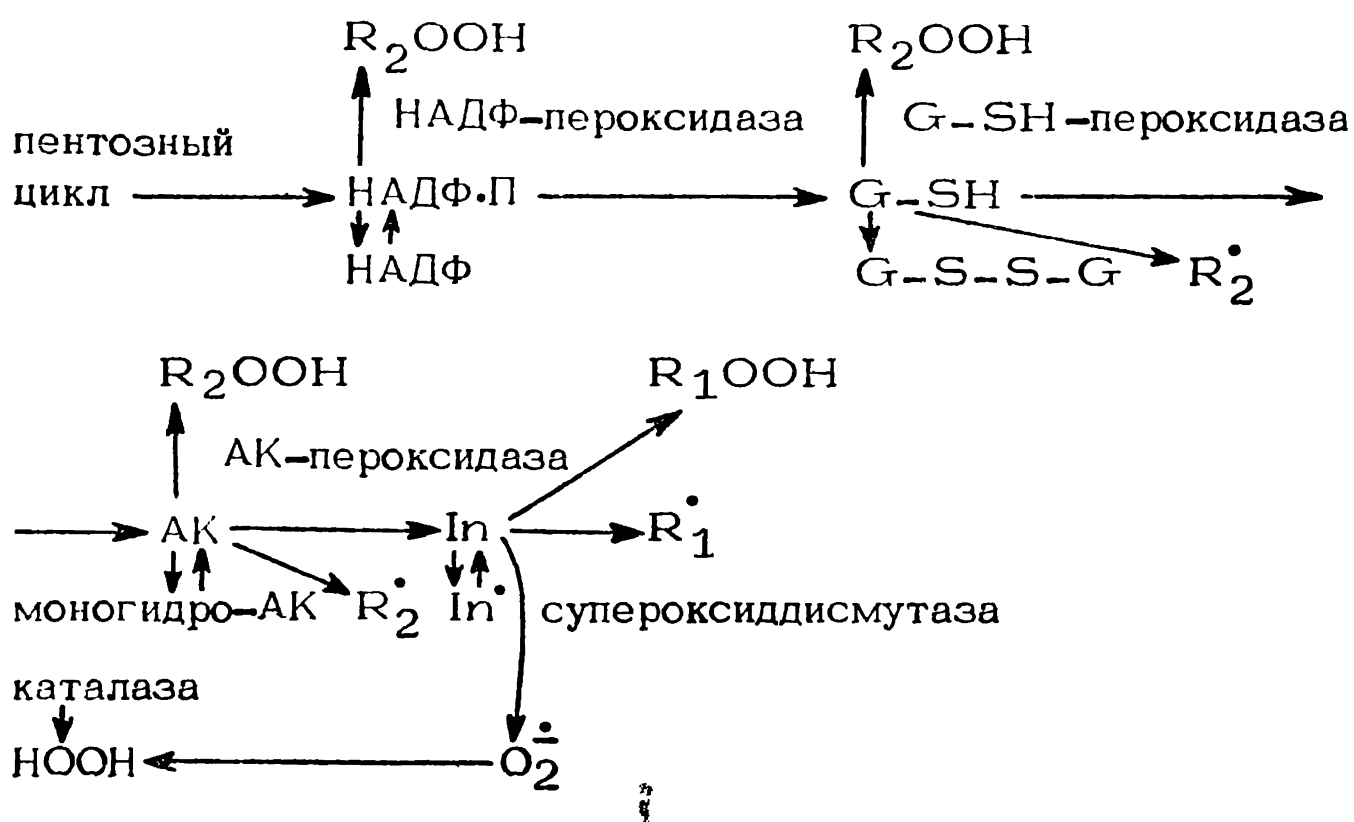


Функционированием этой эффективной донорно-акцепторной системы в живых организмах и ее участием в различных окислительно-восстановительных процессах объясняется биологическая активность витамина С. Система $\text{АК} \rightleftharpoons \text{дегидро-АК}$ стабилизируется рядом ферментов (оксидаз), с помощью которых в растительных и животных тканях поддерживается довольно устойчивое соотношение этих двух форм витамина С. Окисление АК происходит с образованием промежуточных свободных радикалов. При этом наиболее активным ее состоянием является монодегидроаскорбат, что связывается со способностью этого нестабильного радикала к самоокислению-самовосстановлению. Окисление АК в аэробных условиях индуцируется ионами металлов переменной валентности, хинонами и другими веществами. В свою очередь ферментное восстановление дегидроаскорбата в животных тканях происходит в присутствии $\text{НАДФ} \cdot \text{H}^+$ и восстановленного глутатиона, а в модельных опытах — с участием других SH-содержащих агентов.

Биосинтез АК осуществляется растениями и большинством животных. Исключение составляют человек, обезьяны и некоторые животные, в тканях которых этот вита-

мин не синтезируется, и потребность в нем как незаменимом факторе питания должна обеспечиваться за счет поступления извне. При недостатке в рационе свежих овощей и фруктов — основных источников витамина С — возникает, как известно, гипо- и авитаминоз (цинга), при котором практически оказываются пораженными все ткани и органы человека. Из-за выпадения функции витамина С в соответствующих ферментативных реакциях нарушаются основные виды обмена веществ, главным образом связанные с окислительно-восстановительными превращениями метаболитов.

Витамин С является важным компонентом биологической антиоксидантной системы, тесно взаимосвязанным с глутатионом и токоферолом. Так, превращение АК и глутатиона ($G-SH$) обеспечивает поток атомов водорода от восстановленных пиридиннуклеотидов ($НАДФ \cdot H$ и $НАД \cdot H$) через токоферол (ТФ) на «гашение» свободных радикалов липидов. При этом АК служит донором водорода для фермента АК-пероксидазы, разрушающей перекиси. Этот процесс протекает по схеме¹ [26]:

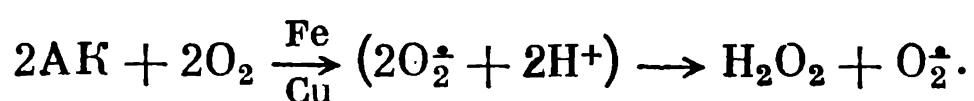


Необходимо отметить важную роль витамина С в биотрансформации (особенно в микросомальном окислении) ряда эндогенных и чужеродных веществ в организме чело-

¹ На схеме опущены редуктазы, которые катализируют поток водорода по цепи восстановленные пиридиннуклеотиды—глутатионредуктаза к АК-редуктазе. $R_1^{\cdot}$ — липидные радикалы, $R_2^{\cdot}$ — гидрофильные радикалы.

века, что связано с функционированием цикла цитохрома Р-450.

В настоящее время бесспорным является стимулирующее действие витамина С на активность цитохромного цикла и вообще на процессы гидроксилирования. В модельных опытах на микросомах печени, полученных от морских свинок, находившихся на аскорбатдефицитной диете, констатировано замедление окисления холестерина в желчные кислоты и гидроксилирования многих лекарств. При этом была снижена активность цитохрома Р-450. У людей, особенно у пожилых, с заболеваниями печени при С-витаминной недостаточности также нарушается способность гидроксилирования холестерина и ряда лекарств [34]. Примечательны сведения о двухфазном действии витамина С на данный процесс: если при дефиците АК снижена функция цитохромного цикла, то в условиях физиологического уровня обеспеченности этим витамином активность гидроксилирующих ферментов повышается. Однако в очень высоких концентрациях аскорбат, как было показано в модельных опытах и на целостном организме, ингибирует реакции гидроксилирования, что, в частности, проявляется торможением окисления холестерина и ряда чужеродных веществ, например анилина и антипирина. Важно также, что параллельно и в соответствии с такими изменениями активности гидроксилаз изменяется интенсивность ПОЛ в биомембранах. Это объясняется, очевидно, тем, что в реакциях гидроксилирования и перекисного окисления принимает участие один и тот же ключевой фермент — цитохром Р-450, активность которого зависит от обеспеченности окислительной системы аскорбатом. Однако механизм интенсификации витамином С процессов микросомального окисления окончательно не выяснен. Многие авторы считают, что этот эффект обусловлен взаимодействием окислительно-восстановительной системы аскорбат—монодегидроаскорбат—дегидроаскорбат с системой $\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+}$, поддерживающей железо в восстановленном состоянии. Возможно также активирование цикла цитохрома Р-450 благодаря известной способности аскорбата проявлять в присутствии ионов железа и меди прооксидантный эффект с промежуточным образованием супероксидного радикала и перекиси водорода:



Отсюда становится понятно, почему при дефиците витамина С снижена активность процессов микросомального окисления. Что касается механизма торможения процессов микросомального окисления при применении больших количеств витамина С, то допустимо предположение, что это антиоксидантное действие может быть связано с его электронно-донорными свойствами, когда аскорбат выступает в качестве синергиста природных антиоксидантов (α -токоферола, глутатиона и др.), поддерживая их в восстановленном состоянии и тем самым способствуя обрыву процесса СРО. Эту точку зрения подтверждает тот факт, что выполнять роль индукторов и ускорителей ПОЛ могут и другие витамины, например А и D, для которых также характерно образование в процессе аутоокисления промежуточных свободнорадикальных форм. Такой же эффект, как уже неоднократно указывалось, свойствен ионам металлов переменной валентности, особенно Fe^{2+} и Cu^+ , которые в малых дозах оказывают прооксидантный эффект, а в больших — являются антиоксидантами.

Двойное действие витамина С может быть привлечено и к объяснению его парадоксального эффекта на фагоцитоз. Установлено, что степень обеспеченности организма витамином С оказывает влияние на процессы фагоцитоза — важного компонента неспецифического иммунитета. Так, у морских свинок с авитаминозом С и у людей, больных цингой, снижена фагоцитарная активность нейтрофильных лейкоцитов и альвеолярных макрофагов, угнетены их бактерицидные свойства. Дача здоровым людям физиологических доз АК не изменяет фагоцитарную активность лейкоцитов, способствуя, однако, ее нормализации у лиц со сниженной фагоцитарной реакцией. Между тем прием добровольцами в течение нескольких недель массивных доз аскорбата приводит, как и при С-витаминовой недостаточности, к резкому снижению бактерицидного эффекта лейкоцитов. Для понимания возможного механизма такого неоднозначного действия витамина С на фагоцитоз и, в частности, на бактерицидные свойства фагоцитирующих клеток следует кратко рассмотреть химизм этого процесса.

Доказано, что во время фагоцитоза происходит резкое увеличение потребления кислорода нейтрофилами и макрофагами. В результате интенсификации СРО на поверхности плазматической мембраны этих клеток возникает

высокая концентрация супероксидного аниона ($O_2^{\bullet}$) и перекиси водорода, обладающих выраженным бактерицидным действием. Следовательно, антимикробные свойства лейкоцитов и макрофагов связаны с процессами СРО. С другой стороны, имеются данные о том, что при дефиците АЖ нарушается окисление глюкозы, которое значительно повышается при фагоцитозе. В свою очередь, это понижает ферментативный процесс активации молекулярного кислорода и его СРО, что приводит к торможению фагоцитоза. В случае гипервитаминоза С, по-видимому, превалирует антиоксидантный эффект аскорбата и поэтому падает уровень продуктов СРО, проявляющих бактерицидное действие. Косвенным подтверждением высказанного положения могут служить наблюдения, при которых витамин Е как *in vitro*, так и *in vivo* угнетает бактерицидные свойства нейтрофилов. Вместе с тем недостаточность витамина Е неблагоприятно влияет на резистентность организма к бактериальной и вирусной инфекции, тогда как его применение в целом повышает иммунологическую реактивность [92].

В последние годы все большее внимание уделяется анализу взаимосвязи между обеспеченностью организма АЖ и иммунологической реактивностью. Широко дискутируется вопрос о профилактике и лечении гриппа и простудных заболеваний массивными дозами витамина С (2—10 г в день), в 20—100 раз превышающими физиологическую потребность человека. Такая рекомендация была дана известным ученым Полингом [135]. Однако многочисленные исследования, в том числе и широкие эпидемиологические наблюдения на людях, получавших в период эпидемий гриппа ежедневно по несколько граммов витамина С, показали, что АЖ практически не влияет на резистентность к гриппу и острым респираторным заболеваниям. Нет в настоящее время и достаточно убедительных данных об эффективности дополнительного применения витамина С здоровыми людьми с целью стимуляции других иммунологических реакций, хотя подобные убеждения широко распространены.

Другой интересный аспект молекулярной биологии витамина С касается его защитной роли при патологических процессах, непосредственно связанных с нарушениями СРО.

Многие исследования, посвященные изучению лечебно-профилактического действия АЖ при различных по-

вреждающих воздействиях, хотя и не позволяют сделать однозначный вывод об эффективности витамина С, однако свидетельствуют о его защитной роли при антиоксидантной недостаточности. В частности, создается впечатление, что такое благоприятное влияние наиболее выражено при поражении легких. Например, нами был констатирован защитный эффект АК при экспериментальном отравлении нитрогазами. Аналогичные данные были получены при отравлении озоном, а также кислородом под повышенным давлением. Возможно, это следует связать с тем, что в легких около 50% АК содержится в межклеточной жидкости дыхательного эпителия, тогда как ферментативные механизмы контроля свободнорадикальных процессов (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза) расположены внутриклеточно и не могут, следовательно, реагировать с внеклеточными свободными радикалами и окислителями. Поэтому при токсическом воздействии на легкие первым вступает в реакцию защиты витамин С, который способен тормозить образование супероксидного радикала и нейтрализовать гидроксильные и перекисные радикалы. Кроме того, от обеспеченности организма витамином С зависит уровень витамина Е в тканях и активность глутатионпероксидазы — составных компонентов антиоксидантной биологической системы.

Поскольку для большей части жителей умеренной и холодной полосы земного шара потребление пищи, богатой витамином С, носит сезонный характер, у многих из них в зимне-весенний период возникают явления С-витаминной недостаточности, которые могут поставить под угрозу здоровье. Особенному риску подвержены люди, проживающие в загрязненной окружающей среде, подвергающиеся стрессорным воздействиям, употребляющие алкоголь, курильщики. Потребность в витамине С повышается при высококалорийной пище, богатой белками, жирами и холестерином. Она возрастает также при лихорадящих заболеваниях и воспалительных процессах, при приеме многих лекарств. Когда продукты питания не обеспечивают оптимальной потребности организма в витамине С, необходимо постоянно дополнительно принимать препараты АК. Такая искусственная витаминизация пищевых рационов в нашей стране осуществляется у работников вредных производств, например контактирующих с токсичными веществами и источниками

ионизирующих излучений, а также в больницах и детских учреждениях.

Уместно отметить, что витамин С обладает способностью в той или иной мере проявлять защитный эффект при недостатке в организме витаминов А, Е, В₁, В₂, В₆ не только у человека, но и у сельскохозяйственных животных, пушных зверей и птиц. Особенно выражены его профилактические и лечебные свойства при А- и Е-витаминной недостаточности. Так, добавление АК к рациону цыплят с низким содержанием витамина Е предохраняет их от развития поражения нервной системы и нормализует резко повышенный уровень липоперекисей в тканях. Несмотря на способность сельскохозяйственных животных, пушных зверей и птиц синтезировать витамин С, снижение его содержания в тканях наблюдается при неполноценном белковом питании, при многих видах гиповитаминозов, в особенности А и Е, при воздействии температурных и других экстремальных факторов, при инфекционных заболеваниях, гельминтозах. В таких случаях в комбикорма добавляют витамин С. Его также включают в рацион молодняка. При этом одновременно достигается экономия других витаминов [19].

Другой практически важный аспект использования АК связан с применением ее для торможения окислительных процессов в пищевых продуктах при их хранении. Во многих странах мира в различных отраслях пищевой индустрии АК, ее натриевая соль и жирорастворимые производные (аскорбилпальмитат и др.) применяются в качестве добавки к продуктам питания. Например, они используются для стабилизации сухого молока, маргарина, майонеза, для предотвращения окисления липидов в мороженой рыбе и рыбопродуктах при их продолжительном хранении.

Витамин А и каротиноиды

Витамин А и его предшественники — каротиноиды — являются полиненасыщенными соединениями, для которых характерно чередование простых и сопряженных двойных связей. Наиболее распространенными природными формами витамина А, которые содержатся только в тканях животных организмов, являются ретинол (витамин А₁)

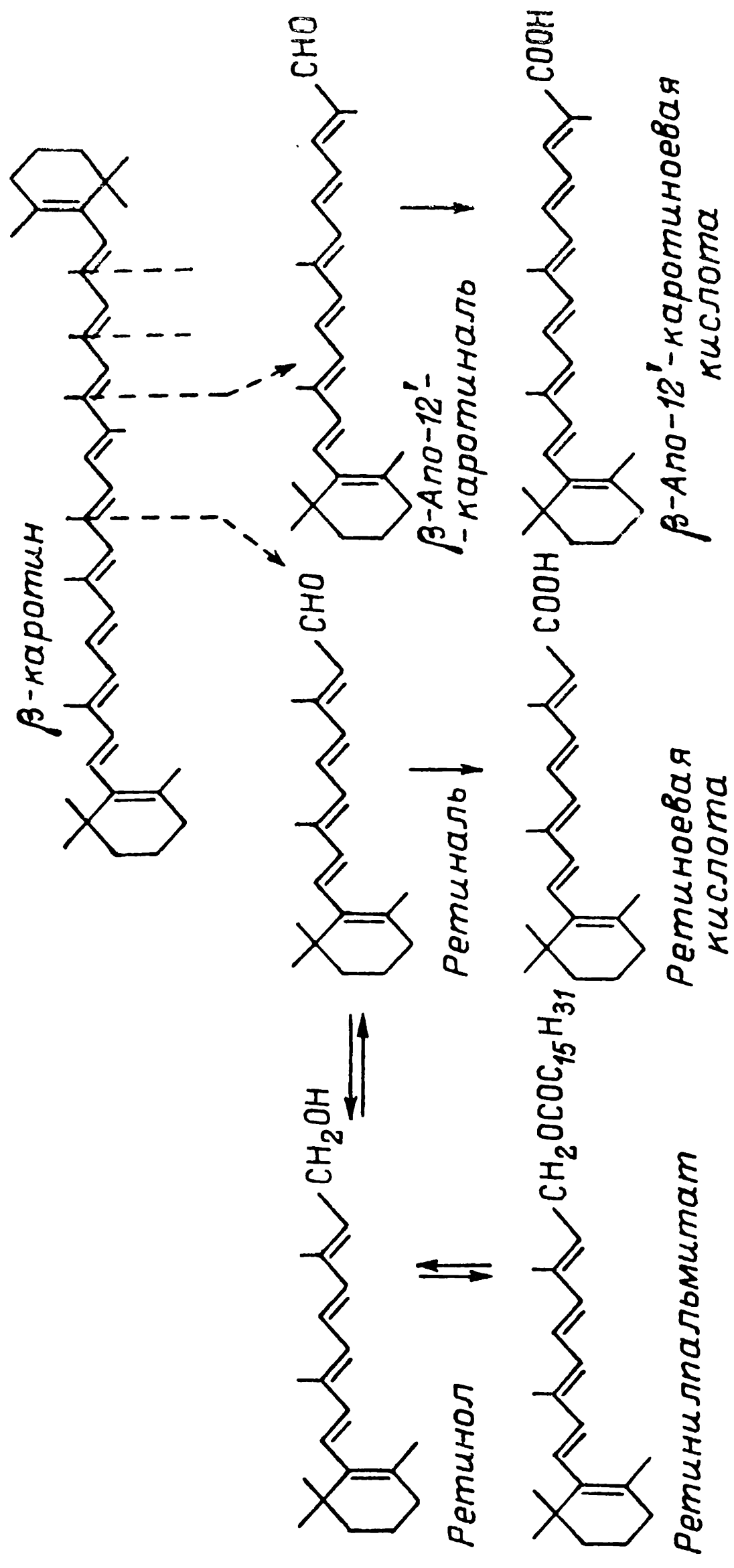


Рис. 3. Схема превращений β -каротина и витамина А.

и ретинолпальмитат. Ретинол ($C_{20}H_{30}O$) представляет собой циклический ненасыщенный одноатомный спирт с пятью двойными связями в молекуле и одним β -иононовым кольцом. Боковая цепь состоит из 9 атомов углерода с 4 сопряженными двойными связями. Ее можно рассматривать как 2 остатка изопрена со спиртовой группой (рис. 3). К природным формам витамина А относятся также ретиналь (ретинальдегид) и ретиноевая кислота, которые образуются в результате окисления спиртовой группы ретинола.

Предшественниками витамина А (провитаминами A_1) являются α -, β - и γ -каротины. Из этих изомеров β -каротин наиболее распространен в растительном и животном мире. Молекула его состоит из 2 симметрично расположенных β -иононовых колец, соединенных алифатической цепью, имеющей 9 ненасыщенных связей. Два других изомера каротина отличаются от β -каротина тем, что имеют только одно кольцо β -ионона. Каротины, содержащиеся в пище, сами по себе не обладают активностью витамина А, а приобретают ее после превращения в ретинол. Наиболее активным провитамином А является β -каротин, так как из одной его молекулы в организме образуются 2 молекулы ретинола, тогда как из одной молекулы α - или γ -каротина получается лишь одна молекула витамина A_1 .

Каротиноиды и витамин A_1 , будучи высоконепредельными соединениями, легко подвергаются аутоокислению. Поэтому вполне правомерно, что под влиянием атмосферного кислорода и других окислителей возникают перекисные продукты их окисления. Кроме того, каротиноиды и витамин А как компоненты липидов могут инициировать в них процессы СРО. Превращение каротиноидов в ретинол путем окислительного расщепления углеродной цепи β -каротина осуществляется по двум направлениям: по центральной двойной цепи либо по периферическим двойным цепям (см. рис. 3). При расщеплении по центральной двойной связи образуются две молекулы ретиноля, которые восстанавливаются в ретинол. Далее ретинол превращается в ретинилпальмитат и в таком виде депонируется в печени. У человека определенная часть каротина расщепляется главным образом в кишечнике по периферическим двойным связям, с образованием апокаротиналя, который окисляется и выводится из организма. На этом пути превращения вместо двух

молекул ретиналя образуется лишь одна молекула вещества, обладающего биологическими свойствами витамина А. Таким образом, одной из причин уменьшения витаминной активности β -каротина при его биотрансформации в витамин А может быть асимметричное окисление, т. е. не в месте центральной двойной связи.

Антиоксиданты участвуют в реакциях превращения различных форм витамина А. Так, они ингибируют расщепление β -каротина по периферическим двойным связям и тем увеличивают количество его молекул, расщепляющихся по центру. Это приводит к возрастанию эффективности биосинтеза витамина А в кишечнике. Кроме того, противоокислительные вещества понижают активность ферментов, окисляющих ретиналь в ретиноевую кислоту, что увеличивает продолжительность биологического действия витамина А. Например, изучение влияния витамина Е на обмен витамина А показывает [138], что у крыс и кроликов при состоянии недостаточности витамина Е понижено содержание витамина А во внутренних органах, развиваются признаки вторичной недостаточности витамина А. Запасы витамина А расходуются намного быстрее, если животные получают рацион, одновременно лишенный витаминов А и Е. Установлено, что концентрация витамина А в печени животных повышается, если одновременно с каротином в рацион включить токоферол. Например, при низком (0.08 мг) содержании каротина в ежедневном рационе крыс под влиянием добавления в корм 10 мг токоферола количество витамина А в печени увеличивается примерно в 2 раза. Если к рациону кур-несушек, содержащему только каротин, добавить витамин Е, то количество витамина А в яичном желтке возрастет в 1.5 раза. В то же время было обнаружено, что витамин Е усиливает токсическое действие больших доз витамина А, что связывают с торможением его окисления. Имеются и другие данные о том, что при добавлении в корм животных синтетических антиоксидантов повышается усвоение каротина, отмечается более высокий уровень в крови и большее накопление в печени ретинола. Уместно также обратить внимание на влияние жирового компонента пищи на усвояемость каротина и витамина А. Характерно, что продукты прогоркания жира, в частности перекиси ненасыщенных жирных кислот, разрушают каротин и витамин А.

Многогранна роль витамина А в различных сторонах обмена веществ. Наиболее подробно изучено влияние витамина А на акт зрительного восприятия, на процессы фоторецепции. По существующим представлениям, светочувствительные пигменты клеток сетчатки глаза (палочек и колбочек), воспринимая воздействие света, подвергаются превращениям, а образующиеся продукты фотохимической реакции иницируют новый импульс, который передается по зрительному нерву к центру зрения в головном мозге. Светочувствительным пигментом палочек является родопсин, колбочек — йодопсин. Хромофором в этих пигментах служит витамин А в форме альдегида (ретинала), который, соединяясь с белком (опсином), образует родопсин. Для синтеза родопсина необходимы SH-группы, которые освобождаются при его распаде за счет поглощения энергии фотона. Эта многоступенчатая свободнорадикальная реакция заканчивается образованием исходных продуктов, т. е. опсина и ретинала, который затем восстанавливается в витамин А₁ с участием НАД·Н₂ (или НАДФ·Н₂). Однако в процессе синтеза и распада пигмента часть витамина А безвозвратно теряется. Вот почему для сохранения зрительной функции организм нуждается в постоянном поступлении каротиноидов.

С помощью метода ЭПР показано, что превращения родопсина сопровождаются появлением неспаренного электрона. В модельных опытах установлено, что при воздействии света на сетчатку глаза в ней возникают перекисные радикалы.

Следует оценить также роль витамина А в обмене сероорганических соединений. Оказалось, что он необходим для образования активного сульфата, который используется в синтезе ряда серосодержащих биомолекул (гепарина, сульфацеребброзидов и др.), а также для связывания и обезвреживания некоторых эндогенных веществ и ксенобиотиков. На основании серии опытов с цистеином и радиоактивным метионином показано, что витамин А тормозит превращение сульфгидрильных групп в дисульфидные, т. е. ведет себя как антиоксидант. Нарушениями обмена серы объясняют усиление кератинизации (ороговения) поверхностного эпителия — характерный признак А-витаминной недостаточности, которому, как правило, сопутствует увеличение содержания цистина — окисленной формы цистеина. Витамин А уча-

ствуется также в биосинтезе гликопротеидов. Отмечено, что при А-авитаминозе уменьшается прочность биомембран, например снижается резистентность эритроцитов к гемолизу. Особенно необходим витамин А для поддержания стабильности лизосом, повреждение которых приводит к выходу в окружающую среду ферментов и наблюдается как при недостаточности витамина А, так и при его избытке в организме. Молекулярный механизм этого явления недостаточно ясен. Полагают, что витамин А влияет также на метаболизм мембранных фосфолипидов и что стабилизирующий эффект его физиологических концентраций определяется способностью регулировать ПОЛ [110]. Наличие сопряженных связей в молекуле витамина А и склонность к аутоокислению обосновывают возможность его участия в свободнорадикальных окислительных реакциях в липидах. В этом плане представляют интерес данные о влиянии различных концентраций ретинола на перекисное окисление в однослойных липосомах из фосфолипидов желтков куриных яиц [41]. Степень липопероксидации, которую инициировали ионами Fe^{2+} и витамином С, оценивали по накоплению малонового диальдегида. Оказалось, что действие ретинола на этот процесс зависит от его концентрации. В низких концентрациях (0.15 моль ретинола на 100 моль фосфолипидов) он ускорял перекисное окисление, а в концентрации 1 моль на 100 моль фосфолипидов, наоборот, ингибировал. О том, что витамин А может проявлять антиоксидантные свойства, свидетельствуют данные о снижении ретинолом активности НАДФ·Н и аскорбатзависимого перекисного окисления в микросомах печени. В исследованиях В. И. Калмыковой и соавторов [57] также обнаружено, что витамин А тормозит микросомальное окисление липидов и препятствует накоплению перекисных продуктов окисления и реакции ретинола с олеиновой кислотой. Наиболее отчетливо антиоксидантная активность (АОА) витамина А была констатирована в опытах на А-гиповитаминозных крысах, у которых сниженная резистентность эритроцитов к гемолизу восстанавливалась после введения ретинола. Авторы связывают антиоксидантное действие витамина А с нормализацией структурно-функциональных свойств мембран и его участием в обмене тиоловых соединений. Таким образом, витамин А имеет прямое отношение к архитектуре и деятельности биомембран.

Имеется большое количество работ, касающихся антиокислительных свойств каротиноидов при облучении ультрафиолетовым и видимым светом различных растительных и животных организмов. В биологических системах каротиноидные пигменты участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, на что указывает, например, широкое распространение в растениях кислородных производных каротиноидов — эпоксидов, чрезвычайно легко отдающих кислород. При фотосенсибилизированном окислении в биологических объектах каротиноиды инактивируют возникающий синглетный кислород и другие активные радикалы, появляющиеся в результате развития ПОЛ.

Несомненный интерес с практической точки зрения представляют данные о лечении β -каротином протопорфирий — заболеваний, связанных с нарушением обмена порфирина в эритроцитах и фотосенсибилизацией кожи к видимому свету. Терапевтический эффект обусловлен, очевидно, тем, что β -каротин тормозит фотохимические свободнорадикальные реакции. Это заключение вытекает также из того, что в опытах *in vitro* облучение видимым светом в присутствии кислорода приводит к гемолизу эритроцитов больных с протопорфирией. В то же время в атмосфере азота и при добавлении β -каротина к облучаемому объекту гемолиза не происходит.

Важно иметь в виду, что витамин А препятствует канцерогенному действию бенз(а)пирена и других веществ. Такой эффект объясняют его способностью тормозить микросомальное окисление этих соединений в активные канцерогены. Нельзя не отметить также, что витамин А может влиять на передачу наследственной информации хромосомным аппаратом клеток. Так, в модельном эксперименте установлено, что ретинол подавляет мутации, вызванные окисленными продуктами некоторых токсичных веществ, например 2-флюоренамином. Если же окислительной активации для проявления действия мутагенного агента не требуется, то витамин А не оказывает защитного эффекта. Следовательно, противомутагенные свойства витамина А также, очевидно, связаны с антиоксидантным торможением превращения ксенобиотиков.

Вместе с тем витамин А и каротиноиды весьма чувствительны к окислению. Они легко разрушаются в тканях организма и в продуктах питания, особенно при це-

достатке антиоксидантов. Например, при хранении сливочного масла в нем резко снижается уровень витамина А и β -каротина, главным образом за счет образования перекисных соединений, для которых естественным антиоксидантом служит витамин Е.

В серии работ на модели инициированного окисления β -каротина, выполненных под руководством Н. М. Эмануэля, было показано [60], что при автоокислении β -каротина с большой скоростью образуются активные свободные радикалы. В инициировании активных центров цепи участвует как сам β -каротин, так и промежуточные продукты его превращения. Наряду с этим молекула β -каротина проявляет высокую активность в реакциях с другими свободными радикалами — алкильными, алкоксильными и перекисными. Показано, что противорадикальная активность β -каротина значительно выше, чем витамина А, из-за большего числа сопряженных двойных связей его молекулы. Эти работы вскрыли механизм потерь β -каротина в жирах, кормах и пищевых продуктах при хранении и показали, что β -каротин и витамин А являются достаточно активными акцепторами свободных радикалов, эффективность которых сравнима с типичными антиоксидантами, например ионолом. Однако противоокислительное действие этих полиненасыщенных соединений в присутствии кислорода относительно невелика, потому что они сами подвержены аутокаталитическому окислению с образованием свободных радикалов. Вот почему добавление их в больших количествах в окисляющуюся систему может вызвать прооксидантный эффект.

Здесь уместно отметить, что свободнорадикальный характер окисления каротина явился основанием для его использования с целью изучения АОО тканей и испытания синтетических антиоксидантов. Такая модель была разработана О. Т. Касакиной [59] и испытана при изучении динамики АОО мороженого криля в процессе его хранения. С другой стороны, надо иметь в виду, что окисленные промежуточные продукты β -каротина и витамина А могут обладать противооксидантными свойствами и, значит, интенсифицировать ПОЛ. В литературе давно дискутируется вопрос о том, служит ли каротин катализатором или ингибитором окисления жиров. Так, Н. И. Эмануэль и Ю. Н. Лясковский [129] приводят данные о повышении устойчивости к окислению

маргарина, сала, масла и других пищевых жиров при добавлении к ним кристаллического β -каротина. Но там же есть сведения и о проокислительном действии β -каротина. Однако как бы то ни было, сохранение β -каротина в продуктах питания и кормах является актуальной народнохозяйственной задачей, и потому правомерен поиск эффективных способов его стабилизации, в частности путем использования синтетических антиоксидантов, тормозящих окислительное разрушение каротиноидов. Так, для стабилизации β -каротина в растительном масле, животных жирах, лекарственных препаратах, содержащих жирорастворимые витамины, а также в травяной муке предложено использовать в качестве антиоксидантов производные 1,4-дигидропиридина, синтез которых был осуществлен группой ученых Института органического синтеза АН Латвийской ССР под руководством Г. Я. Дубура. В частности, была установлена высокая АОА одного из этих препаратов — дилудина. На основании комплексных исследований, в которых принимал участие один из авторов настоящей книги, был разработан способ стабилизации органических веществ, научная новизна которого подтверждена авторским свидетельством [62]. В настоящее время дилудин используется для стабилизации препаратов витамина А и вводится также в травяную муку.

Сохранение витамина А достигается также и с помощью других антиоксидантов. В этой связи можно назвать лекарственный препарат аевит, который содержит ретинол и ацетат токоферола и который рекомендован для лечения атеросклероза. Однако доза ретинола в нем относительно высока, поэтому, чтобы избежать явлений А-гипервитаминоза, курс лечения не должен превышать 30 дней. По-видимому, для более удачного использования этого антиоксидантного лекарства целесообразно уменьшить в нем содержание ретинола и соответственно витамина Е.

Ознакомившись в этом разделе с биологической ролью витамина А и каротиноидов, можно считать совершенно очевидным их участие в свободнорадикальных реакциях. Высокая способность к аутоокислению этих полиненасыщенных соединений предопределяет пути их превращения в организме животных и в растениях, а также их нестойкость в продуктах питания и кормах при хранении. Становятся также понятными взаимоотношения ка-

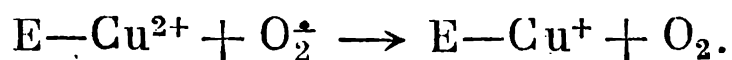
ротиноидов с витаминами Е и С, серосодержащими аминокислотами, селеном и другими биоантиоксидантами. Несомненны антиокислительные свойства ретинола и β-каротина. Однако в этом качестве они не нашли еще должного практического применения, и поэтому необходимы дальнейшие исследования в данном многообещающем направлении.

Ферменты-антиоксиданты

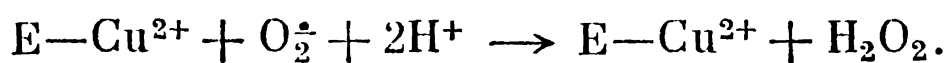
Изучение кислородзависимых процессов в клетке позволило установить, что ряд ферментов выполняют не только каталитические функции при реализации противоокислительных свойств тех или иных защитных веществ, но и обеспечивают прямое обезвреживание интермедиатов кислорода и озона. Они сводят к минимуму концентрацию супероксидного радикала, перекиси водорода и синглетного кислорода в клетке и резко уменьшают образование наиболее токсичного радикала $\text{OH}^\bullet$ (т. е. тормозят реакцию Габера—Вейсса). Следовательно, эти ферменты должны рассматриваться как необходимое звено противоокислительной системы. Первый и самый важный из них — супероксиддисмутаза (СОД), структурные свойства которой впервые были описаны еще в 1938 г. известными биохимиками Кейлиным и Манном. Тогда эти ученые выделили из крови вола белок сине-зеленого цвета, содержащий много меди и получивший вследствие этого название эритрокупреина. В последующем аналогичное вещество обнаружили во многих других органах и установили, что оно содержит также цинк. Но только через 30 лет после этого открытия Фридович и Мак-Корд показали, что основное свойство данных веществ — улавливание и обезвреживание супероксидного радикала. Так была идентифицирована СОД, интерес биохимиков к которой не ослабевает. Любопытно, что строго анаэробные организмы, гибнущие в присутствии кислорода, не содержат СОД: у таких существ нет биологической потребности в этом ферменте, так как они не восстанавливают кислород, а значит — «не производят» супероксидный радикал.

Наличие в составе СОД ионов металлов переменной валентности имеет важное биологическое значение, так как именно данная особенность структуры обеспечивает

электронно-транспортную функцию активных центров фермента. Причем главное значение здесь имеют атомы меди, в то время как атомы цинка играют, вернее всего, стабилизирующую роль.¹ Рассмотрим в общих чертах механизм защитного антиоксидантного действия СОД. Взаимодействие этого фермента ($E-Cu^{2+}$) с супероксид-радикалом можно представить в виде схемы:



Следовательно, одновременно с окислением меди идет восстановление супероксидного радикала до молекулярного кислорода. При наличии водородных ионов, которые постоянно присутствуют в клетках, эта реакция приводит к образованию перекиси водорода (реокисление), а валентность меди не меняется:



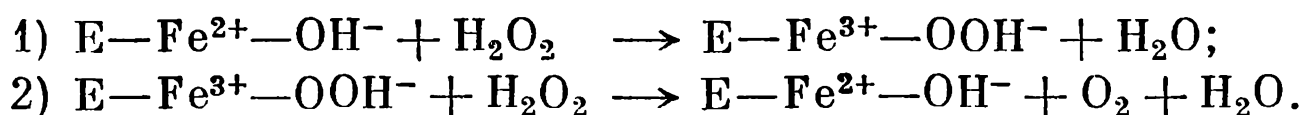
Ясно, что хотя при этом и происходит дисмутация супероксидрадикала, антиоксидантная защита обеспечивается не полностью, так как образуется биологически активный интермедиат кислорода.

Уместно обратить внимание еще на одну структурную особенность СОД. Как теперь удалось выяснить, ее молекула состоит из двух идентичных субъединиц, каждая из которых имеет внутри белковой цепи дисульфидный мостик и одну SH-группу. Логично предположить, что эти составные элементы СОД играют определенную роль в ее противоокислительном действии. С одной стороны, свободная сульфгидрильная группа, являясь донором водорода (протонов), может непосредственно восстанавливать токсичные интермедиаты кислорода, а с другой — дисульфид, восстанавливаясь, может сам стать источником двух активных SH-групп. Вообще активность СОД как фермента, играющего ключевую роль в создании противоокислительной защиты клетки, меняется в зависимости от парциального давления кислорода. Так, была показана возможность индукции СОД посредством воздействия на биологические объекты высоких давлений

¹ Однако существуют такие формы СОД, которые вместо Cu^{2+} и Zn^{2+} содержат в своих молекулах Mn^{3+} или Fe^{3+} . Они были выделены из некоторых бактерий, а также из органов теплокровных животных.

кислорода. Если в последующем они подвергались повторному влиянию гипероксии, то оказывались более устойчивыми к ней. Следовательно, повышение уровня фермента в организме влечет за собою увеличение резистентности к кислороду.

Жизненно важное значение имеют также биохимические механизмы поддержания нормального уровня обмена перекиси водорода, которая из-за своей токсичности не должна накапливаться в клетках. Первоочередную роль здесь играют ферменты, которые избирательно катализируют разрушение ее молекул. Это — каталазы и пероксидазы, восстанавливающие H_2O_2 до двух молекул воды. Если ферментная защита обеспечивается каталазой, то донором электронов служит сама H_2O_2 , а если функционируют пероксидазы, то для этого используются другие восстановители. Каталазы и пероксидазы объединяет одна общность структуры — они включают простетическую группу, содержащую атомы железа и близкую по своему строению к геминовой части молекулы гемоглобина. Эти атомы железа обладают парамагнитными свойствами, что позволяет оценивать каталитические свойства названных ферментов методом ЭПР. Например, в присутствии каталазы разложение H_2O_2 может осуществляться посредством двух реакций:



восстановленная
каталаза

окисленная
каталаза

Содержание каталазы у млекопитающих особенно велико в эритроцитах. У человека высокий уровень этого фермента отмечен также в печени и почках, в то время как его очень мало в мозге, щитовидной железе, половых железах. Возможно, это зависит от того, насколько те или иные клетки подвержены вредному влиянию избытка перекиси водорода. А в тех органах, в которых H_2O_2 выполняет полезную роль (например, в щитовидной железе, где H_2O_2 участвует в биосинтезе гормона), каталаза совсем отсутствует.

Пероксидаза широко распространена как в животном, так и в растительном мире, ее каталитические свойства проявляются даже при очень низких концентрациях H_2O_2 . Небезынтересно, что некоторые растения по колп-

честву содержащейся в них пероксидазы превосходят ткани животных со стационарно высоким уровнем данного фермента. Значит, разложение перекиси водорода в растительной клетке может оказаться не менее (если не более) важным, чем в животной.

Согласно современным представлениям, важным антиоксидантным ферментом является церулоплазмин (ЦП) — медьсодержащий белок α -глобулиновой фракции сыворотки (названный так из-за небесно-голубого цвета), окисляющий различные субстраты, в том числе полифенолы, полиамины, биогенные амины (медиаторы нервной системы серотонин и катехоламины), а также превращающий Fe^{2+} в Fe^{3+} . В активном состоянии ЦП содержит Cu^{2+} и имеет синюю окраску, а восстановление меди до Cu^{+} сопровождается потерей окраски и оксидазной активности. Последнее, например, происходит при взаимодействии ЦП с аскорбиновой кислотой.

Физиологическая роль ЦП еще полностью не раскрыта. Одно из главных предназначений ЦП — перенос меди из печени, где осуществляется его синтез, к органам и тканям, в которых медь функционирует в составе ряда окислительно-восстановительных ферментов, прежде всего — цитохром-с-редуктазы и СОД. ЦП рассматривают в настоящее время как один из факторов нейроэндокринной регуляции и естественной защиты организма при стрессовых состояниях, воспалительных, аллергических процессах и других заболеваниях. Концентрация ЦП в крови повышается при острых воспалительных процессах, инфаркте миокарда, ишемии и других заболеваниях, связанных с повреждением ткани. Например, найдена прямая зависимость между содержанием ЦП в крови и размером очага инфаркта миокарда. Поэтому ЦП называют «реактантом острой фазы». Повышение его уровня в крови свидетельствует об активности патологического процесса и рассматривается как компенсаторная реакция организма, направленная на ферментативное окисление биогенных аминов и других медиаторов.

Особый интерес представляют появившиеся в последние годы сведения об антиокислительных свойствах ЦП. Обнаружено, что он восстанавливает супероксидные радикалы до кислорода и воды, т. е. обладает супероксиддисмутазной активностью. Но в отличие от СОД, защищающей внутриклеточные структуры, ЦП функционирует в крови и перехватывает свободнорадикальные

формы кислорода, предохраняя таким образом от их повреждающего действия липидсодержащие биоструктуры. Это было показано в модельных опытах, в которых антиоксидантную активность ЦП определяли путем измерения степени торможения окислительных реакций в системах, генерирующих O_2^+ . Установлено, что ЦП, подобно медьсодержащей СОД, катализирует дисмутацию O_2^+ и тем тормозит процессы аутоокисления [134]. В других опытах выявлено ингибирующее действие ЦП на процессы ПОЛ, инициированные аллергической реакцией при контакте лейкоцитов с аллергеном [45]. В связи с этим становится понятной одна из основных функций ЦП — «гашение» свободных радикалов, которые образуются в макрофагах и лейкоцитах при фагоцитозе и развитии ПОЛ в очаге воспаления.

Таким образом, церулоплазмин следует рассматривать как компонент антиокислительной биологической системы, выполняющий роль универсального внеклеточного «чистильщика» свободных радикалов. В механизме его антиокислительного эффекта необходимо учитывать также способность ограничивать окисление Fe^{2+} в Fe^{3+} и тем самым ослаблять процессы СРО, для которых необходимы ионы негемового железа. Кроме того, вероятно, имеет значение участие ЦП в регуляции уровня адреналина: если окисленная форма ЦП окисляет адреналин до адренохрома, то можно предположить, что восстановленная форма ЦП восстанавливает адренохром.

В настоящее время разработана технология получения лекарственного препарата ЦП. В экспериментально-терапевтических исследованиях показана его эффективность при воспалительных процессах и анемии [91]. Надо полагать, что антиокислительные свойства ЦП откроют более широкие перспективы его клинического применения.

Итак, существование аэробных организмов зависит от постоянного функционирования ферментной системы антиоксидантной защиты от интермедиатов кислорода, обладающих высокой биологической активностью.

ЛИПИДЫ, ИХ ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ И АНТИОКСИДАНТЫ

Состав липидов

Липиды входят в состав тканей животных и растений наряду с белками и углеводами. Особенности химического строения липидов определяют их участие в построении клеточных структур (биомембран и органелл), в синтезе многих биологически активных веществ, а также в качестве источников энергии. Класс биологических липидов в основном представлен триглицеридами и фосфолипидами, он включает также углеводороды, стерины, стероиды, каротиноиды, воска.

Триглицериды — это сложные эфиры глицерина и жирных кислот. Их физические и химические свойства определяются составом и структурой жирных кислот. Сложную смесь триглицеридов называют жирами, которые в небольшом количестве могут содержать *ди-* и *моноглицериды*. Жиры являются структурными компонентами цитоплазмы различных клеток, а также откладываются в жировой ткани. Жир, который концентрируется у человека в подкожной жировой ткани, в тканях, окружающих внутренние органы (сердце, почки, кишечник и др.), главным образом участвует в процессах терморегуляции (жировая ткань — плохой проводник тепла) и служит основным энергетическим резервом.

Фосфолипиды — главные липидные компоненты биомембран, они являются сложными эфирами спиртов, жирных кислот (преимущественно ненасыщенных) и фосфорной кислоты, которая почти всегда этерифицирована азотистым основанием. В зависимости от природы спирта их разделяют на 3 основные группы: 1) фосфоглицериды, которые включают холинфосфолипиды (лецитины), этаноламинфосфолипиды (кефалины), серинфосфолипиды, фосфатидокислоты и др.; 2) фосфосфингозины, основу молекулы которых составляет ненасыщенный аминокислотный спирт сфингозин; 3) фосфоинозитиды — соединения, общими компонентами которых являются спирт инозит и фосфорная кислота.

Жирные кислоты (ЖК) являются составной частью триглицеридов, фосфолипидов и восков. У различных организмов их состав неодинаков и различается по количеству углеродных атомов (коротко-, средне- и длинноцепочечные), четным или нечетным их числам, количеству насыщенных и ненасыщенных (двойных) связей и пространственной конфигурации молекулы относительно связей (цис-, транс-, цистранс-изомеры).

Высшие растения синтезируют ненасыщенные жирные кислоты (НЖК) — олеиновую ($C_{18:1}$)¹, линолевую ($C_{18:2}$) и линоленовую ($C_{18:3}$), а высшие животные — только олеиновую кислоту. Однако они в отличие от растений способны при наличии в пище $C_{18:2}$ и $C_{18:3}$ синтезировать из них полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) с большим числом углеродных атомов и двойных связей. Например, арахидоновая кислота ($C_{20:4}$) образуется из линолевой кислоты. ПНЖК (линолевая, линоленовая и арахидоновая) получили название эссенциальных, т. е. незаменимых факторов питания, так как они необходимы для нормальной жизнедеятельности человека и животных и степень обеспеченности ими зависит от их содержания в рационе. Существуют и лекарственные препараты, содержащие НЖК. Это, например, линетол, включающий смесь эфиров НЖК.

ЖК в резервных липидах непрерывно обновляются. Имеется относительное постоянство скоростей включения ЖК в обмен веществ и депонирования новых липидов. ЖК являются наиболее лабильными компонентами фосфолипидов, их обновление происходит много быстрее, чем целых молекул фосфолипидов.

Фосфолипиды

Как уже отмечалось, важная физиологическая роль фосфолипидов (ФЛ) определяется прежде всего тем, что они входят в состав белково-липидных комплексов мембран, митохондрий, лизосом, эндоплазматического ретикулума, ядра и других клеточных органелл. Благодаря тому что фосфолипиды бномембран содержат относительно много ПНЖК, они способны легко окисляться.

¹ Первая цифра обозначает число углеродных атомов, вторая — количество двойных связей.

Однако различные фракции ФЛ отличаются по составу НЖК и, следовательно, по их подверженности перекисному окислению.

Е. Б. Бурлакова [18], рассматривая физиологические механизмы поддержания стационарного уровня интенсивности окислительных реакций в липидах биомембран, указывает, что скорость ПОЛ и их антиокислительная активность (АОА) взаимосвязаны с химическим составом липидов. Так, спектр фосфолипидов изменяется таким образом, что при усилении ПОЛ, которое сопровождается понижением АОА, мембраны обогащаются более устойчивыми к окислению фракциями ФЛ (сфингомиелином, фосфатидилхолином). Это приводит к замедлению скорости свободнорадикального окисления (СРО) и снижению расхода антиоксидантов. Происходящее при этом относительное увеличение уровня АОА способствует нормализации ПОЛ. Напротив, уменьшение скорости ПОЛ влечет за собой повышение в мембранах уровня легкоокисляемых фракций ФЛ (фосфатидилсерин, фосфатидилинозит), содержащих больше высоконенасыщенных жирных кислот, что повышает скорость образования свободных радикалов. При их взаимодействии с антиоксидантами утилизируется избыток последних и восстанавливается исходный уровень окислительных процессов. Такие колебания в составе ФЛ позволяют поддерживать стационарный уровень ПОЛ и биоантиоксидантов.

Изменение состава липидов, в свою очередь, влияет на микровязкость (текучесть) липидной фазы и структурно-функциональные свойства мембран. В частности, от состояния липидной фазы существенно зависит активность ряда мембранно-связанных ферментов, например аденилатциклазы, фосфодиэстеразы, эстеразы, аденозинтрифосфатаз. Между тем от активности этих ферментов, в особенности аденилатциклазы, зависит уровень цАМФ (циклического аденозинмонофосфата). Путем изменения активности этого ключевого фермента (и соответственно изменения концентрации циклических нуклеотидов), как известно, осуществляется нейрогуморальная регуляция метаболизма в клетках.

В исследованиях ближайших сотрудников Н. М. Эмануэля — Е. Б. Бурлаковой, Н. Г. Храповой и их соавторов — показано, что содержание животных на специальной диете, обогащенной антиоксидантами, либо введение им некоторых синтетических антиоксидантов вызывает

в мембранах митохондрий и микросом печеночных клеток повышение АОА липидов, а также изменение состава ФЛ, понижение вязкости липидной фазы и увеличение активности ряда липидзависимых ферментов. Обобщая эти и многие другие данные, авторы приходят к заключению, что с помощью антиоксидантов можно воздействовать на систему циклических нуклеотидов и, следовательно, — на интенсивность метаболизма и функцию клеток.

С другой стороны, при патологических процессах, сопровождающихся усилением свободнорадикальных реакций и срывом антиоксидантной системы защиты от ПОЛ, изменяются фосфолипидный состав биомембран и их физические свойства, что понижает активность мембранных ферментов. Кроме того, в ходе интенсивного перекисного окисления ФЛ и снижения АОА накапливаются различные продукты (перекиси, альдегиды и др.), которые путем окисления SH-групп нарушают структуру и свойства мембранно-связанных белков и белково-липидные взаимодействия, что также влияет на функциональную активность ферментов и чувствительность клеток к медиаторам и гормонам. Отсюда понятно, что нормализация ПОЛ при многих заболеваниях посредством активации физиологической антиоксидантной системы будет способствовать восстановлению химического состава, структуры и функции биомембран и их восприимчивости к регуляторным воздействиям. Таков, очевидно, молекулярный механизм лечебного действия антиоксидантных препаратов при разнообразных патологических состояниях.

К изложенному следует добавить, что фосфолипидные фракции известны как антиоксиданты. Например, лецитин (холинфосфатид) был одним из первых антиоксидантов, принятых в США в качестве пищевой добавки для стабилизации жиров и масел. В настоящее время промышленное производство фосфатидов (комплекс фосфолипидов различного состава) осуществляется из растительных масел. Модельные опыты показали, что фосфатиды выступают как синергисты по отношению к противooksислительному действию витамина Е, очевидно, способствуя сохранению его восстановленной формы. Уместно отметить, что в составе промышленных образцов пищевых фосфатидных концентратов, полученных из соевого и подсолнечного масла, наряду с содержанием около 60% фосфолипидов (в составе которых примерно

50% линолевой кислоты) имеется в довольно высоких количествах витамин Е (в среднем 44 и 28 мг на 100 г концентрата соответственно). Наконец, природные комплексы фосфатидов выпускаются в качестве лекарственных средств. Так, фосфолипиды (холинфосфатиды) являются главным действующим компонентом лекарства эссенциале, которое применяется при острых и хронических заболеваниях печени, в том числе при циррозе, алкогольных интоксикациях, а также рекомендуется при радиационном синдроме и для профилактики преждевременного старения. В состав этого лекарства входят также витамин Е, никотинамид (витамин РР) и пиридоксин (витамин В₆). Из других лекарственных препаратов такого типа назовем церебролецитин и липоцеребрин, содержащие преимущественно холинфосфолипиды мозговой ткани крупного рогатого скота, а также фитин, изготовляемый из обезжиренных конопляных и других жмыхов и содержащий в основном инозитфосфатиды.

Холестерин

Значение холестерина (ХС) в жизнедеятельности организма определяется, с одной стороны, его структурной ролью в плазматических мембранах клеток, а с другой — из него образуется ряд жизненно необходимых соединений (желчные кислоты, стероидные гормоны, витамин D и др.). Холестерин легко взаимодействует с фосфолипидами, образуя с ними комплексы в соотношении 1:1. Особенно высокое сродство к холестерину имеет сфингомиелин. Основная масса холестерина в организме человека сосредоточена в плазматических мембранах и мембранах эндоплазматического ретикулума, где он находится во внешнем их монослое в составе фосфолипидных комплексов. В жировой ткани и эндокринных органах, осуществляющих биосинтез стероидов, ХС находится в составе липопротеидных комплексов. Важно иметь в виду, что при соотношении ХС/ФЛ более 1:1 (что может быть при атеросклерозе и других болезнях, сопровождающихся накоплением свободного холестерина в плазме крови) в плазматической мембране эритроцитов и клеток сосудистой стенки могут происходить внутримембранная сегрегация и кристаллизация.

В организме человека массой 70 кг без явных при-

знаков ожирения содержится около 150 г холестерина. Весь фонд холестерина складывается из поступившего с пищей и синтезированного в самом организме. Количественный вклад этих двух источников ХС варьируется. В обычной диете человека среднего возраста содержится 0.2—0.5 г холестерина. Способностью синтезировать ХС обладают почти все клетки человека, однако около 80% его образуется в печени (0.8 г в день).

В многочисленных исследованиях показано, что процессы поступления и биосинтеза ХС взаимосвязаны: при высоком содержании в пище тормозится его образование в печени, при низком — интенсифицируется биосинтез. Холестериновый баланс организма зависит также от скорости его удаления из организма в неизмененном виде и в виде продуктов превращения. Перенос ХС осуществляется главным образом в виде эфиров в составе липопротеидов крови.

Холестерин (рис. 4) — одноатомный вторичный спирт, он является неполярным гидрофобным соединением, молекула которого включает 8 углеродных атомов в боковой цепи и легко образует комплексы с солями кальция и магния. Вполне вероятно, что такие комплексы могут быть в местах отложения холестерина. ХС относится к числу легко самоокисляющихся соединений. Он окисляется даже при хранении в кристаллическом состоянии. Основные продукты аутоокисления холестерина: 7-кетохолестерин, 7 α - и 7 β -оксихолестерины. В организме человека и животных окислению подвергается как сама его стероидная циклическая структура, так и боковая цепь. В результате образуются соединения, лучше растворимые в воде, что способствует их выведению из организма. До 90% ХС путем окисления превращается в печени в желчные кислоты, около 3% окисляется в прегненолон ($C_{21}H_{32}O_2$), из которого в дальнейшем образуются стероидные гормоны в мембранах митохондрий надпочечников, яичников, семенников и плаценты. Наряду с этими основными ферментативными путями окисления холестерина (реакции дегидрирования в положениях 7 и 8) из него образуется также 7-дегидрохолестерин, который при участии цитохрома Р-450 окисляется в витамин D₃ (холекальциферол). Эта ферментная система функционирует в печени, слизистой кишечника и коже человека.

Окисление холестерина в желчные кислоты осуществляется в печени монооксигеназной ферментной системой,

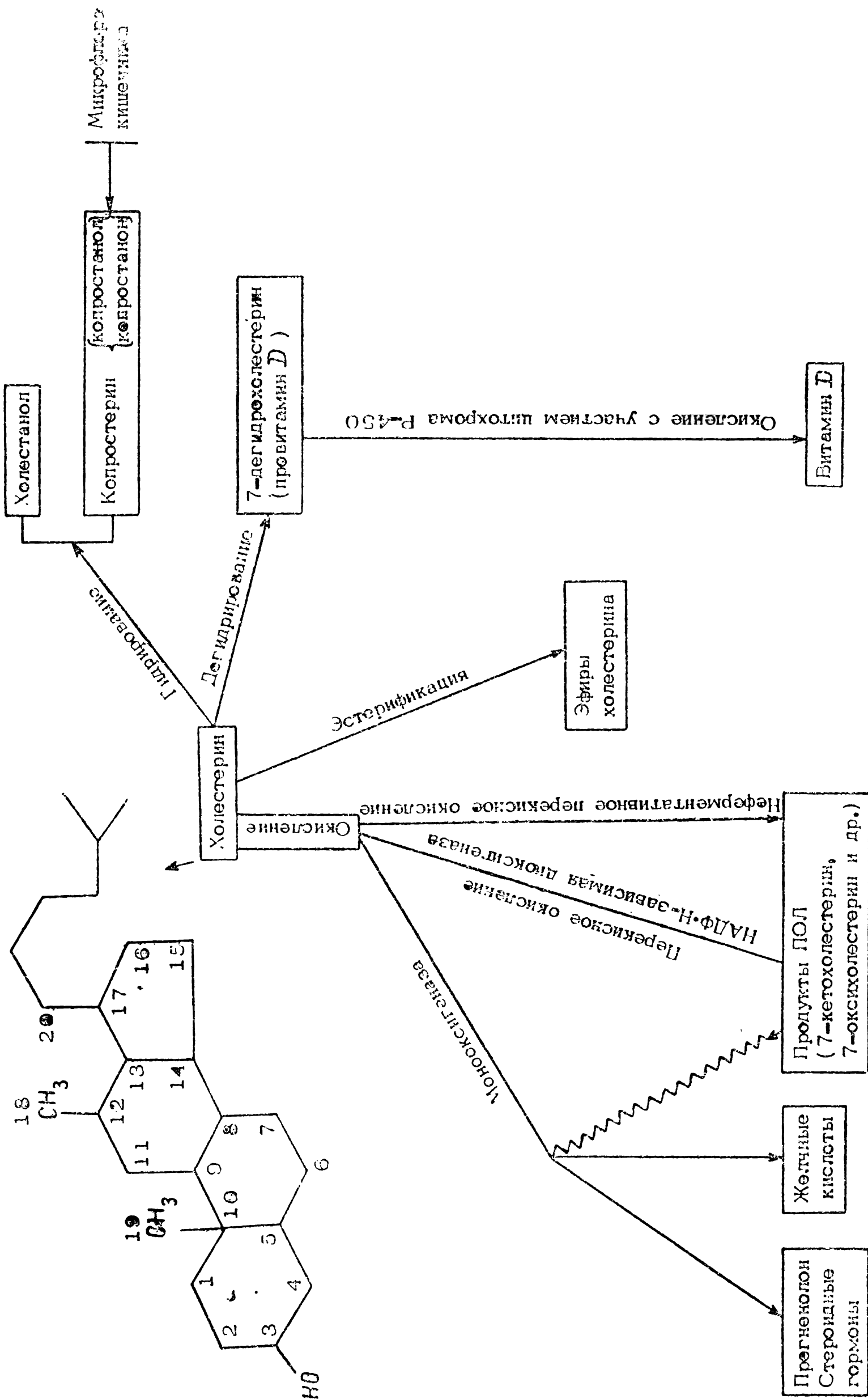


Рис. 4. Пути превращения холестерина в организме человека.

локализованной в микросомальной фракции. В этой же микросомальной НАДФ·Н-системе с участием цитохрома Р-450 происходит также окисление (гидроксилирование) молекулярным кислородом ряда других эндогенных веществ и ксенобиотиков. Доказано, кроме того, что микросомальная фракция гепатоцитов может окислять холестерин и по перекисному механизму в 7-кетохолестерин, 7-оксихолестерин и др. Уместно отметить, что в своей монографии «Аутоокисление холестерина» Смит [137] приводит результаты идентификации с помощью метода тонкослойной хроматографии еще 8 из 32 известных продуктов окисления холестерина, содержащихся в атеросклеротической бляшке, удаленной из аорты человека. Следовательно, в организме человека образуются соединения, идентичные продуктам аутоокисления кристаллического холестерина.

Надо подчеркнуть, что активирование перекисного окисления холестерина тормозит реакции его микросомального гидроксилирования, т. е. превращения в желчные кислоты. Иными словами, существуют конкурентные взаимоотношения между процессами перекисного окисления холестерина и образования желчных кислот. Отсюда следует, что ускорять перекисное окисление холестерина могут, очевидно, все агенты, которые угнетают процесс его ферментативного окисления. Данный факт имеет значение для понимания причин антиоксидантной недостаточности при атеросклерозе. В частности, экспериментальный атеросклероз у кроликов, крыс и мини-свиней сопровождается снижением скорости окисления холестерина в желчные кислоты в печени, что объясняется угнетением активности фермента (7 α -гидроксилазы), катализирующего этот процесс, и активированием перекисного окисления [71]. Важно, что усиление процессов ПОЛ при атеросклерозе приводит к синтезу липопротеидов, содержащих в своем составе в несколько раз больше гидроперекисей свободного и этерифицированного холестерина. Следовательно, перекисному окислению подвержены не только фосфолипиды, но и холестерин. Теперь уже доказано, что СРО холестерина может осуществляться также неферментативным путем под действием активных форм кислорода, которые образуются в ходе ПОЛ. Считается, что окисленные производные холестерина, будучи более полярными соединениями (подобно гидроперекисям фосфолипидов), изменяют состав липидов, проницаемость и другие свойства

биомембран. Одновременно в литературе подчеркивается, что при повышенном содержании холестерина в организме (холестеринозе) усиливаются процессы ПОЛ, а это приводит к снижению АОА липидов во многих органах и тканях. В то же время обогащение пищи антиоксидантами ослабляет явления перекисидации и способствует образованию из холестерина желчных кислот. Заслуживает внимания и то, что в зависимости от условий ПОЛ холестерин может проявлять как прооксидантные, так и антиоксидантные свойства. Способность холестерина тормозить ПОЛ была подтверждена также на модели липосом, приготовленных из фосфолипидов мозга, в системе $\text{Fe}^{2+} + \text{аскорбат}$. В другом исследовании [22] установлено, что интенсивность перекисного окисления фосфолипидов яйца, вызванного ультрафиолетовым облучением, снижается с увеличением в биологическом объекте концентрации холестерина. Такое торможение перекисного окисления связывается с возможным увеличением микровязкости и стабильности мембран, хотя и не исключается непосредственное антирадикальное действие холестерина. Однако этот эффект характерен для неокисленного холестерина, тогда как при использовании препаратов, содержащих окисленный холестерин, иногда наблюдается даже стимуляция перекисного окисления.

Витамин D

Ряд стеринов, называемых кальциферолами, обладают D-витаминной активностью — предупреждают заболевание рахитом и излечивают от него. С этой целью используются холекальциферол (витамин D₃) и эргокальциферол (витамин D₂). Провитамином D₃ является продукт дегидрирования холестерина — 7-дегидрохолестерин, а провитамином D₂ — эргостерин, присутствующий, в отличие от холестерина, в растениях и микроорганизмах. Специальную антирахитическую активность они приобретают под действием ультрафиолетового облучения, когда реализуется первый этап трансформации их молекул. При дальнейшем микросомальном окислении в печени образовавшиеся оксикальциферолы с помощью специфического транспортного белка переносятся в почки. Здесь реализуется последний этап их окислительных превращений с образова-

нием диоксикальциферолов, которые, как теперь полагают, проявляют основную D-витаминную активность.

Фонд витамина D у человека пополняется главным образом путем его образования из 7-дегидрохолестерина при облучении кожных покровов солнечными лучами и за счет поступления кальциферолов с пищей. Богатыми источниками холекальциферола являются печень и жир рыб и морских животных. Значительно меньше его в яичном желтке, сливочном масле и молоке.

Биологическое действие витамина D связано с участием в обмене кальция (транспорт через слизистую оболочку кишечника и отложение в костной ткани), а также с построением и функциями биомембран, в частности — с влиянием на их проницаемость для кальция и других катионов. Недостаточность витамина D часто встречается у детей младшего возраста. Явления дефицита витамина D могут возникнуть у лиц пожилого возраста и беременных, длительно лишенных солнечного света (проживающих, например, на Крайнем Севере), в рационе которых преобладают продукты растительного происхождения, богатые углеводами с высоким содержанием фосфора и низким — кальция.

Примечательно, что большие дозы лекарственных препаратов витамина D, применяемые с целью профилактики и лечения рахита и ряда других заболеваний, вызывают картину тяжелого гипервитаминоза, для которого характерны явления кальцификации кровеносных сосудов, сердечной мышцы, почек и ряда других тканей и органов, а также повреждающее действие на биомембраны.

Выдающийся ученый Селье обнаружил [136], что стерины из группы витамина D (облученный эргостерин и дигидротахистерин) могут вызвать у крыс артериосклероз аорты, сосудов сердца и почек, а также некроз миокарда с кальцификацией его волокон. Интересно отметить, что склероз венечных сосудов у крыс, длительно получавших витамин D, резко усиливается под влиянием кратковременного, но повторяющегося стрессорного воздействия (сильное мышечное напряжение, холод, голод, травма). В дальнейшем подобные данные были получены и другими исследователями.

Характерным физико-химическим свойством кальциферолов является их чувствительность к действию кислорода и света. При доступе воздуха частичное разрушение эргокальциферола происходит уже за 1—2 дня при ком-

натной температуре. Подобно холестерину, окисление витамина D на воздухе носит аутокаталитический свободно-радикальный характер. Особенно быстрому (через несколько часов) окислению, с образованием перекисных и карбонильных продуктов, эргокальциферолы подвергаются в водной среде в аэробных условиях при физиологических значениях температуры (37 °C) и pH. Аутоокисление эргокальциферола сопровождается хемилюминесценцией, ускоряется ионами Fe^{2+} и тормозится в атмосфере углекислоты и при добавлении α -токоферола, инола и пропилгаллата. Эти факты наряду с прямой регистрацией методом ЭПР образования свободных радикалов при аутоокислении кристаллического эргокальциферола позволили В. Б. Спиричеву [109] доказать свободнорадикальный механизм аутоокисления витамина D и высказать гипотезу, что продукты его перекисного окисления провоцируют СРО липидов биомембран, что может играть важную роль в механизме токсического влияния D-гипервитаминоза на человека и животных.

Способность эргокальциферола индуцировать перекисное окисление липидов была подтверждена также в опытах, в которых хроматографическим методом было выделено несколько фракций окисленного эргокальциферола, содержавших преимущественно перекисные и карбонильные соединения либо продукты его глубокого окислительного расщепления. Эти фракции вводили подопытным животным однократно или повторно в дозах и по схемам, принятым для воспроизведения экспериментального D-гипервитаминоза. Было установлено, что фракция, содержащая соединения преимущественно перекисной природы, вызывает характерные для D-гипервитаминоза изменения обмена кальция и фосфора, равно как и отложение кальция в мягких тканях. При этом интенсивность кальциноза аорты и сердца у животных была в 2 раза выше, чем при введении самого эргокальциферола в равной дозе. В пользу концепции о роли свободнорадикальных превращений в механизме мембраноповреждающего действия токсических доз витамина D свидетельствуют также данные других опытов. Например, было обнаружено, что в тканях экспериментальных животных увеличивается концентрация свободных радикалов в первые часы после введения избыточно высоких доз витамина D. При D-гипервитаминозе понижается перекисная резистентность эритроцитов, повышается активность лизосомальных ферментов (пока-

затель нарушения стабильности мембран этих внутриклеточных органелл). В специальных экспериментах установлено, что токсическое действие витамина D усиливается у животных с недостаточностью витамина E, тогда как α -токоферол оказывает защитный эффект. Благоприятное влияние витамина E было отмечено также при назначении его людям с явлениями интоксикации витамином D. Поэтому вполне оправданными являются сделанные В. Б. Спиричевым рекомендации о недопустимости превышения доз витамина D, применяемого для профилактики рахита и с лечебными целями, а также целесообразности включения антиоксидантов в комплексную терапию D-гипервитаминоза у детей и взрослых.

Заканчивая рассмотрение биологической роли стерина, следует остановиться на трех важных, на наш взгляд, положениях. Первое — это легкая подверженность холестерина и витамина D свободнорадикальному превращению как *in vitro*, так и *in vivo*, с образованием перекисных соединений. Следствием этого может быть индукция ПОЛ, а также других свободнорадикальных процессов. Зная о том, что свободнорадикальные формы многих веществ проявляют мембранотоксическое действие, можно полагать, что при избытке поступления перекисей холестерина и ряда других его производных (а возможно, и предшественников) с пищей или при их образовании в процессе обмена они будут оказывать сходный токсический эффект. Второе — это то, что в эндоплазматическом ретикулуме происходит гидролитическое окисление как холестерина, так и ряда чужеродных веществ с помощью одних и тех же мембранных ферментов — цитохромов. Уместно отметить, что ферменты инактивируются *in vitro* окисью углерода и тиоловыми ядами, а реактивируются тиоловыми антиоксидантами. Отсюда допустимо предположение, что существуют определенные взаимоотношения между скоростью окисления холестерина и некоторых ксенобиотиков. Это может изменить интенсивность их превращения и соответственно повлиять на образование желчных кислот и продуктов окисления ксенобиотиков. В связи с этим закономерен также вопрос, может ли при холестеринозе тормозиться микросомальное окисление ксенобиотиков и как на этот процесс влияет пища с высоким содержанием холестерина. С другой стороны, при хроническом отравлении веществами, вызывающими угнетение активности цитохрома P-450 (окись углерода, ртуть,

мышьяк, свинец, кадмий и др.), может быть блокирован основной путь биотрансформации холестерина и ряда других эндо- и экзогенных веществ. Возможные последствия этой блокады следует, очевидно, учитывать при анализе механизмов их токсичности, а также при объяснении благоприятного действия тиоловых антиоксидантов. Например, известно, что увеличение уровня холестерина в крови и атерогенное действие вызывают такие промышленные яды, как окись углерода, свинец, сероуглерод. Возможно, токсический эффект этих веществ следует связать с их способностью тормозить активность цитохрома Р-450 и тем вызывать холестериноз. Данная гипотеза будет обсуждена позднее. Третье положение вытекает из факта существования конкурентных взаимоотношений между процессами гидроксилирования холестерина и его перекисного окисления. Отсюда следует, что индуцировать перекисное окисление холестерина могут, очевидно, все агенты, которые угнетают процесс его ферментативного окисления. Возможные последствия ускорения перекисного окисления холестерина были уже рассмотрены. При этом усиление процессов ПОЛ в печени, независимо от его причины (накопление продуктов окисления ненасыщенных жирных кислот, жировая дегенерация печени токсического или алиментарного происхождения и т. д.) будет снижать интенсивность образования желчных кислот.

Глава 4

ПИТАНИЕ И АНТИОКСИДАНТЫ

Что такое рациональное питание

Среди конкретных неотложных мер по усилению профилактики заболеваний, укреплению здоровья населения и продлению активной творческой жизни современного человека видное место занимает рационализация питания. Что же под этим понимается с научных позиций?

Питание — это снабжение организма энергией, обеспечение необходимыми для построения клеток и тканей веществами, а также биологически активными соединениями. Полноценное питание призвано способствовать со-

хранению здоровья, гармоничному развитию, высокоактивному образу жизни людей разного возраста, противодействовать инфекциям, повышать устойчивость к различным неблагоприятным факторам внешней среды. Кроме того, рациональное питание должно иметь профилактическую направленность — задерживать старение организма и развитие болезней, в первую очередь таких, как атеросклероз, ишемическая болезнь, онкологические заболевания и многие другие, отнесенных к группе заболеваний нарушенного обмена веществ.

Качественная сторона питания учитывает необходимость поступления с ежедневным рационом незаменимых пищевых веществ, которые в организме человека не могут синтезироваться, прежде всего ряда аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, минеральных веществ и витаминов. Эти пищевые вещества, так же как и энергоценность суточного рациона, должны нормироваться. Установление рациональных норм питания позволяет оценивать фактическое состояние питания отдельных лиц, коллективов и контингентов населения. Они служат целям охраны здоровья жителей нашей страны, являются научной базой планирования производства продовольственных товаров и определяют структуру продуктов, т. е. имеют не только медицинские и социальные аспекты, но и становятся экономической категорией. Для ориентировочного представления о потребностях взрослого человека в отдельных пищевых веществах в табл. 1 приведена формула сбалансированного питания, разработанная в Институте питания АМН СССР. Указанные величины пищевых веществ даны с учетом их оптимального соотношения, необходимого для поддержания нормальной жизнедеятельности взрослого человека, образ жизни которого характеризуется умеренной физической активностью. На подобные соотношения следует ориентироваться при подборе отдельных продуктов и составлении рациона питания. При этом важно знать, что вредна как недостаточность незаменимых факторов питания, так и их избыток. И в том и в другом случае могут возникнуть нарушения обмена веществ и соответствующие алиментарные (от латинского *alimentum* — пища) заболевания.

В природе не существуют продукты, которые содержали бы в достаточном количестве все незаменимые компоненты пищи. Поэтому необходима разнообразная пища, включающая продукты животного и растительного проис-

Формула сбалансированного питания для взрослого человека (усредненные величины потребности в пищевых веществах для мужчин и женщин, энергоценность 2850 ккал, или 11 900 кДж) (по: [121])

Пищевые вещества	Дневная потребность	Пищевые вещества	Дневная потребность	Пищевые вещества	Дневная потребность
Вода, г	1750—2200	Углеводы, г	400—500	фториды	0.5—1.0
В том числе:		В том числе:		йодиды	0.1—0.2
питьевая, чай и т. д.	800—1000	крахмал	400—450	Витамины, мг	
в супах	250—500	сахар	50—100	аскорбиновая кис- лота	50—70
в продуктах	700	клетчатка	25	тиамин	1.5—2.0
		пектин	25	рибофлавин	2.0—2.5
Белки, г	80—100			ниацин (PP)	15—25
В том числе:		Органические кислоты, г	2	пантотенат (B ₃)	5—10
животные	50	Жиры, г	80—100	пиридоксин (B ₆)	2—3
растительные	30—50	В том числе:		кобаламин (B ₁₂)	0.002—0.005
Незаменимые аминокис- лоты, г	1	растительные			
триптофан	4—6	ПНЖК	20—25		
лейцин	3—4	холестерин	2—6		
изолейцин		фосфолипиды	0.3—0.06		
			5		

валин	3—4	Минеральные вещества, мг	биотин	0.15—0.3
треонин	2—3	В том числе:	холин	500—1000
лизин	3—5	кальций	рутин	25
метионин	2—4	фосфор	фолацин (B ₉)	0.2—0.4
фенилаланин	2—4			
Заменимые аминокислоты, г		натрий	D	0.0025—0.01
гистидин	1.5—2		A	1.5—2.5
аргинин	5—6	калий	каротины	3.0—5.0
цистин	2—3	хлориды	E	10—20
тирозин	3—4	магний	K	0.2—3
аланин	3	железо	липсовая кислота	0.5
серин	3	цинк	инозит	500—1000
глутаминовая	16	марганец		
аспарагиновая	6	хром		
пролин	5	медь		
гликокол	3	кобальт		
		молибден		
		селен		

хождения. Какие же продукты и в каких количествах следует включать в повседневное питание? Эти сведения можно почерпнуть из данных, приведенных в табл. 2.

Золотым правилом рационального питания является сохранение состояния энергетического равновесия, т. е. примерное равенство энергоценности дневного рациона суточному расходу энергии. Показателем соблюдения этого правила является стабильность массы тела.

Основным источником белка, как видно из расчета химического состава продуктового набора, служат продукты из мяса, рыбы и молока, а также хлебобулочные изделия. Жировая часть рациона складывается из жира, который имеется в самих продуктах, а также из употребления сливочного масла, животных и кулинарных жиров и растительного масла.

Пищевые жиры (более правильный термин — «липиды») относятся к обязательным компонентам рациона, они не только являются источником энергии для человека, но и незаменимы для нормальной жизнедеятельности. Такими веществами являются полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК): линолевая, линоленовая, арахидоновая, не синтезирующиеся организмом млекопитающих, а также жирорастворимые витамины А, D и E. Исследования главным образом последнего десятилетия позволили получить довольно целостное представление о роли ПНЖК пищи в образовании структурных элементов тканей и, в частности, фосфолипидов мембран клеток и внутриклеточных органелл. ПНЖК являются также предшественниками простагландинов, осуществляющих важнейшие регуляторные функции в организме.

Особенности химического состава пищевых жиров в большой степени влияют на структуру и функцию биомембран. Трудно назвать какие-либо другие пищевые вещества, из которых образуется такое большое количество биологически активных соединений, как из ПНЖК. Рассмотрение связи пищевые липиды—состав липидов мембран—функция мембран показывает определяющее значение в них как абсолютного содержания линолевой кислоты, так и ее соотношения с другими ПНЖК, а также с насыщенными жирными кислотами. Более 40% жирных кислот митохондрий и эндоплазматического ретикулума составляют ПНЖК, причем наибольший удельный вес имеет арахидоновая кислота, которая может синтезироваться у человека из линолевой кислоты,

Ориентировочный суточный набор продуктов (по: [107]) и его химический состав (по: [121])
(для мужчин 18—40 лет, занятых умственным трудом)

Продукты	Количество, г	Химический состав, г			Энергоцен- ность, ккал
		белки	жиры	углеводы	
Растительного происхождения: хлеб ржаной, пшеничный макароны, крупы, бобовые картофель овощи и бахчевые фрукты, ягоды сахар растительное масло	330	24—26	4—5	155—160	720—750
	45	5	1	32	155
	265	4	0.5	33	156
	450	4—6	0.5	16—20	80—100
	220	2—3	—	15—18	70—74
	Не более 100	—	30	—	270
	30	—	30	—	270
	192	21—25	10—20	—	175—280
	986	28	31	46	575
	40	5	4.5	—	61
Итого	575—710	96—107	82—94	397—409	2700—2830

Известно, что изменения в жирнокислотном спектре бисмембран влияют на их функции (проницаемость, активность мембранно-связанных ферментов и др.). Недостаточное снабжение организма ПНЖК вызывает тяжелые нарушения различных сторон обмена веществ, в том числе и холестерина, снижает интенсивность роста у детей, устойчивость к неблагоприятным внешним и внутренним факторам, повышает чувствительность к бактериальным инфекциям желудочно-кишечного тракта и органов дыхания, ослабляет сократительную способность сердечной мышцы, снижает эластичность сосудов и кожных покровов, вызывает склонность к экземам, ломкости и выпадению волос, хрупкости и расслоению ногтей, понижает остроту зрения и др.

Пищевые жиры животного и растительного происхождения имеют различный жирнокислотный состав и содержание витаминов. Источниками животных жиров в нашем питании являются свиной, говяжий и бараний жиры, сливочное масло, а также мясные, молочные и другие жиропродукты: колбасы (20—40% жира), свинина (20—50%), сыры (15—30%), сметана (20—30%). В их составе в большом количестве находятся насыщенные жирные кислоты, но они бедны ПНЖК. Например, в говяжьем жире около 40% насыщенных жирных кислот (пальмитиновой и стеариновой), столько же мононасыщенных жирных кислот (олеиновая) и только 2—5% полиненасыщенной линолевой кислоты. Источником растительных жиров являются в основном подсолнечное, кукурузное, хлопковое масла и крупы. Например, в овсяной крупе 6.9% жира, в гречневой — 3.3%. Много жира в орехах (53—56%). Растительные жиры содержат в основном НЖК, главным образом линолевую кислоту (в подсолнечном и кукурузном масле ее соответственно 60 и 57%).

При обосновании оптимального состава жирового компонента рационов питания надо учитывать также, что животные жиры содержат холестерин и что состав липидов влияет на формирование различных классов липопротеидов, которые осуществляют транспорт липидов к органам и тканям. Высокое содержание в рационе холестерина и насыщенных жирных кислот увеличивает в крови уровень β -липопротеидов. Наконец, существенны различия жиров по составу витаминов. Молочные жиры относительно богаты витаминами А и D, тогда как растительные масла содержат много токоферолов. Вот почему для обеспечения

необходимого жирнокислотного состава рациона взрослого человека, а также достаточного поступления витаминов формула сбалансированного питания предусматривает содержание 70% животных и 30% растительных жиров, что при норме около 100 г жира в сутки дает 2—6 г ПНЖК и 30 г насыщенных жирных кислот. При этом, в частности, соблюдается определенное соотношение между содержанием в пище ПНЖК и потребностью в витамине Е, который является для них природным антиоксидантом: на 1 г ПНЖК приходится 0.5—1 мг α -токоферола.

Сбалансированное соотношение между ненасыщенными и насыщенными жирными кислотами в жировом компоненте пищи, обеспечение рациона антиоксидантами предупреждают чрезмерное усиление ПОЛ. Отсюда понятно, что самоокисляемость липидов возрастает при избыточном поступлении в организм ПНЖК. И это не менее опасно, чем их дефицит, так как значительно повышается подверженность тканевых липидов свободнорадикальному окислительному разрушению.

Кроме того, уместно напомнить, что пищевые жиры в процессе хранения и переработки подвергаются окислению, в связи с чем в них образуется определенное количество токсичных продуктов ПОЛ.

Основным источником усвояемых углеводов (крахмал и сахар) служат хлебобулочные, мучные и кондитерские изделия, удовлетворяющие более чем на 50% потребность организма в энергии. Необходимыми компонентами рациона являются балластные вещества (клетчатка и пектины), которыми богаты изделия из муки грубого помола, крупы, бобовые, овощи и плоды. Полноценное питание включает повседневное потребление овощей и фруктов. Из-за большого количества воды (80—95%) и низкого содержания белка, жира и углеводов они относятся к малокалорийным продуктам (калорийность менее 100 ккал), однако они богаты разнообразными другими пищевыми веществами (органические кислоты, эфирные масла, фитонциды, многие минеральные вещества и др.). Наличие в рационе достаточного количества разнообразных овощей, в том числе около 100 г капусты, 50 г моркови, 20—30 г зеленых листовых овощей (желательно в сыром виде) и различных плодов обеспечивает физиологическую потребность в витаминах С, Р, β -каротине.

Антиоксиданты в пище

Небезынтересно знать, сколько же биоантиоксидантов содержится в приведенном выше наборе продуктов и какие из них являются основными источниками отдельных биоантиоксидантов. Такие примерные расчеты нами были сделаны (табл. 3) на основании справочных данных. Анализ этих данных, на наш взгляд, заслуживает внимания не только с точки зрения обеспечения организма теми или иными биоантиоксидантами, но и с позиции оптимизации структуры питания при различных физиологических состояниях и заболеваниях, вызывающих повышенную потребность в антиоксидантах. Например, об уровне сероорганических биоантиоксидантов можно в большой

Примерный суточный набор продуктов (энергоценность 2700 биоантиоксидантов (в пересчете на

Продукты	Количество, г	Белки, г	Метионин, цистин, мг	Фосфатиды, мг	Витамины, мг		
					Е	А	β-каротин
Хлеб ржаной, батоны	330	25	1000	970	8.0	0	Следы
Крупы, макароны, бобовые	45	5	190	200	1.7	0	»
Молоко и молочные продукты в пересчете на молоко	986	28	1100	500	0.9	0.2	0.2
Мясо и мясопродукты (в том числе субпродукты, гастрономия)	125	23	900	1000	0.6	0.1	Следы
Рыба	25	4	200	120	0.1	Следы	»
Яйцо и яйцепродукты	40	5	230	1400	1.0	0.2	»
Масло подсолнечное	30	0	0	60	20.0	0	0
Картофель	190	4	93	150	0.2	0	Следы
Овощи (капуста, морковь, свекла и др.)	360	5	150	400	0.3	0	4.5
Плоды, ягоды	200	1	5	—	0.8	0	0.3
Итого	2331	100	3868	4800	33.6	0.5	5.0

Примечание. (—) — отсутствие данных; 0 — не обнаружено.

степени судить по содержанию метионина и цистина, а также по количеству серы. Общее количество серосодержащих аминокислот составило 3.9 г, а серы примерно 1 г, что соответствует дневной потребности в них (см. табл. 1). Основными их источниками служат хлебобулочные изделия, молочные и мясные продукты. Физиологическая потребность в витамине Е может быть удовлетворена при наличии в рационе свежего растительного масла. Уместно добавить, что различные маргарины и майонезы, в рецептурах которых имеется растительное масло, также содержат большое количество токоферолов. Содержание витамина А и β-каротина оказалось на нижней границе ежедневной потребности (около 1 мг). При этом около половины приходится на долю витамина А (ретинола), кото-

Т а б л и ц а 3

—3000 ккал) (по: [33]) и ориентировочное содержание в нем съедобную часть продукта) (по: [122])

Витамины, мг							Минеральные вещества			
ниацин (РР)	пиридоксин (В ₆)	холин	инозит	С	Р	липовая кислота, мкг	сера, мг	железо, мг	медь, мкг	селен, мкг
5.3	0.5	—	200	0	0	—	210	8	700	15
0.6	0.1	47	40	0	0	0.8	50	2	200	10
1.0	0.4	200	180	10	0	0.8	280	1	120	20
7.0	0.5	90	60	0	0	—	230	4	250	30
0.2	0.1	20	10	0	0	—	40	0.2	40	5
0.1	0.1	120	15	0	0	—	60	1.3	40	—
0	0	0	—	0	0	0	0	0	0	—
2.5	0.6	60	50	38	40	—	60	1.8	270	—
0.2	Следы	30	150	60	200	0.4	80	3.2	700	—
0.4	0.1	—	150	30	400	10	—	4.0	180	—
17.3	2.4	567	855	136	640	12	1010	25.5	2500	80

рый находится только в продуктах животного происхождения. Остальное количество пополняется β -каротином с учетом того, что его А-витаминная активность в 6 раз выше ретинола. При необходимости повысить количество β -каротина в рационе следует включать в него больше моркови и зеленых овощей (зелень петрушки, лук зеленый, салат). Суммарное количество ниацина (витамин РР) и пиридоксина (витамин В₆) соответствует рекомендуемым величинам.

Содержание фосфатидов целесообразно рассматривать совместно с данными о количестве холина и инозита, поскольку эти вещества являются составной частью фосфолипидов. Их количество в примерном рационе соответствует потребности взрослого здорового человека. Однако при экстремальных ситуациях и для предотвращения антиоксидантной недостаточности, свойственной людям пожилого возраста, особенно страдающим атеросклерозом или хроническими неспецифическими заболеваниями легких, целесообразно их содержание в рационе увеличить. Больше всего фосфолипидов, в основном лецитина (холип-фосфатида), в яйце (3.3%). Богатыми источниками инозита являются говяжье сердце (260 мг/100 г), изделия из дрожжевого теста, приготовленного из обойной муки (100—200 мг/100 г), горох (330 мг/100 г), зеленый горошек (150—240 мг/100 г), апельсины (250 мг/100 г). Главные источники холина — яйца, молочные продукты (сметана — 120 мг/100 г), мясные продукты (говядина — 70 мг/100 г), крупы (овсяная — 90 мг/100 г), бобовые.

Общее количество витамина С в продуктовом наборе около 140 мг, что в 2 раза выше указанной суточной потребности. Однако уместно напомнить, что при длительном хранении картофеля, овощей и плодов в несколько раз падает содержание витамина С. При варке овощей и ягод также теряется 50—60% витамина С, а в процессе приготовления овощных пюре и запеканок — до 90%. Этим продиктована необходимость употребления по-возможности большего количества свежих плодов и овощей. Потребность в витамине С резко возрастает при любых стрессорных воздействиях, при работе с вредными физическими и химическими факторами, при многих заболеваниях. Поэтому научно обоснованными являются мероприятия по С-витаминации готовой пищи в диетических столовых, больницах, родильных домах и дополнительное включение 100—150 мг витамина С в рационы лечебно-

профилактического питания и в гериатрической практике.

К веществам, обладающим Р-витаминной активностью, относятся флавоноиды. Источником их служат плоды и многие овощи. Особенно высоко содержание веществ, обладающих Р-витаминным действием, в темнокрашеннх ягодах, например в черной смородине (680 мг/100 г), вишне (1300—2500 мг/100 г), айве и гранате (200—800 мг/100 г), крыжовнике (225—900 мг/100 г), плодах шиповника (250—700 мг/100 г), а также в щавеле (500 мг/100 г), укропе, зелени петрушки и сельдерея (150—200 мг/100 г). В связи с этим количество витамина Р в рекомендуемом наборе продуктов можно считать достаточным. Наконец, надо отметить, что указанные в табл. 3 количества продуктов животного и растительного происхождения полностью удовлетворяют потребность в липоевой кислоте, а также в микроэлементах — железе, меди, селене.

Таким образом, рекомендуемый продуктовый набор содержит в оптимальных количествах почти все биоантиоксиданты. Исключение составляют, пожалуй, лишь витамины А и β-каротин, а также аскорбиновая кислота.

Следует обратить внимание на то, что приведенные величины физиологической потребности в отдельных пищевых веществах и примерный продуктовый набор рассчитаны на «среднего» человека, т. е. без учета индивидуальных особенностей организма. Поэтому в каждом конкретном случае требуется соответствующая корректировка потребности человека в отдельных компонентах пищи. Надо полагать, что по мере развития науки о питании будет разработана более четкая система критериев оценки индивидуальной потребности в пищевых веществах, позволяющая осуществлять целенаправленный подбор рационов. Пока еще не представляется возможным также создать универсальную формулу сбалансированного состава пищевых веществ, обеспечивающую в равной мере все процессы жизнедеятельности. Рацион, оптимальный для функционирования одной системы организма, не обязательно будет благоприятным для других систем. Это особенно касается диетического питания. Тем не менее в перспективе возможно создание более определенных рекомендаций по индивидуальному питанию с учетом также прогноза предрасположенности человека к тем или иным заболеваниям.

Нерациональное питание и его последствия

В проблеме питания все большее значение приобретает изменение структуры потребления продуктов в связи с промышленным производством многих из них и химизацией сельского хозяйства. Технические успехи пищевой промышленности привели к тому, что в нашей пище резко возросла доля рафинированных, высококалорийных продуктов, к тому же подвергнутых разным способам консервирования и продолжительному хранению. Повсеместное использование минеральных и азотистых удобрений, ядохимикатов повысило их содержание в почве и воде и как следствие — в продуктах растительного и животного происхождения. Дисбаланс в содержании металлов (между калием, кальцием, фосфором и магнием) в пище имеет место в промышленно развитых странах, с ним связывают рост ряда обменных заболеваний. У значительной части населения зарегистрированы явления поливитаминой недостаточности, особенно в связи с сезонными изменениями ассортимента продуктов и уменьшением потребления натуральных продуктов в зимне-весенний период. С другой стороны, различные заболевания связаны с избытком тех или иных веществ в пище. Например, избыток пуринов, вызванный чрезмерным потреблением мясных и рыбных продуктов, ведет к обменным артритам и подагре, а сладостей — способствует развитию диабета. Нарушение гигиенически правильного образа жизни, особенно на фоне несбалансированного питания, приводит к преждевременному старению. Непомерное увлечение мучными изделиями, жирными мясopодуктами, сладостями, острыми и солеными продуктами, алкогольными напитками — вот далеко не полный перечень того, что причиняет вред человеческому организму из-за пренебрежения к элементарным основам питания.

Хронически разбалансированное питание неизбежно приводит к различным алиментарным заболеваниям, которые можно расценивать как последствия «диетического стресса». При этом усиливается вредное действие на организм многих неблагоприятных факторов окружающей среды, повышается риск заболеваний сердечно-сосудистой системы, органов пищеварения.

Научно-технический прогресс заставляет пересмотреть требования к рациональному питанию и в связи с особенностями образа жизни. Нервно-эмоциональные перегрузки

современного человека, низкая физическая активность при сохранении хорошего аппетита ведут к несбалансированности между потреблением высококалорийных продуктов и ежедневными энергозатратами. Такое систематическое переедание привело к тому, что избыточный вес стал распространенным явлением во многих развитых странах, а от сердечно-сосудистых заболеваний в возрасте 40—45 лет почти вдвое чаще умирают люди, страдающие ожирением.

Избыточный вес и ожирение были довольно распространенными явлениями во все века и привлекали внимание еще врачей древности. О том, что тучность не была редкостью для каждой эпохи, свидетельствуют полотна Рубенса, произведения Шекспира, Мольера, Рабле, Гоголя. Сейчас ожирение прогрессирует во всех экономически развитых странах, где число тучных людей с избыточной массой тела составляет половину населения. Это относится и к нашей стране. Обширные эпидемиологические исследования, проведенные недавно в различных климато-географических зонах страны, показали, что ожирением страдают 26% населения. Значительно больше число лиц с избыточным весом, но еще не достигших степени ожирения. Достаточно высок процент тучных среди жителей села (35—40%), что объясняется изменившимся характером их труда и быта, приближающимся к условиям города. Тучность наиболее распространена среди людей среднего возраста, т. е. активной части населения. У 33% мужчин и 45% женщин в возрасте до 39 лет вес превышает норму. Серьезную тревогу вызывает и тот факт, что избыточный вес констатирован у 10—14% детей и подростков нашей страны [108].

Твердо установлена связь между ожирением и повышенным риском заболеваемости и смертностью. Статистические данные страховых компаний США и Европы показывают, что среди людей с ожирением наблюдается более высокая смертность, в основе которой лежат в первую очередь сердечно-сосудистая патология, а также заболевания печени и желчного пузыря, сахарный диабет и другие. Так, установлено, что продолжительность жизни 45-летнего мужчины с 20% избыточной массы на 4 года короче, чем у человека с нормальным весом. Тем самым ожирение становится фактором риска для возникновения атеросклерозов, гипертонической, желчно- и почечнокаменной болезней, сахарного диабета, подагры, артрозов и

артритов. Проведенные эпидемиологические исследования возрастных групп от 18 до 80 лет показали, что эти заболевания при ожирении встречаются в 2—3 раза чаще, чем у людей с нормальным весом.

Стремительный рост тучности в 90% случаев связан с высокой энергоценностью рациона на фоне резкого снижения физической активности современного человека из-за автоматизации производства, развития транспортных средств, улучшения условий жизни. В рационе населения развитых стран преобладают теперь продукты животного происхождения. Так, в нашей стране доля жиров составляет 42% в общей калорийности, вместо рекомендуемых 33%. В странах Запада эта цифра приближается к 50. При этом имеет место недостаток потребления растительного масла. В то же время очень высок уровень потребления сахара и кондитерских изделий, недостаточна доля свежих овощей и фруктов. Кроме того, нарушен режим питания: основная часть суточной калорийности рациона сдвинута на вечерние часы. Такие отклонения от рационального питания нарушают нормальное течение процессов обмена, а в сочетании с малой физической активностью ведут к тучности и ожирению. К примеру, большие изменения в структуре питания в послевоенные годы произошли на Украине и у многих других жителей европейской части СССР. При этом за счет увеличения в рационе доли рафинированных высококалорийных продуктов, в том числе изделий из молока, мяса и птицы, изменилось соотношение животных и растительных жиров с 65:35 до 85:15, повысилось потребление сахара с 5.6 до 22.4%. В то же время остается низким потребление овощей, фруктов и плодов, особенно зимой.

В течение 5 лет Институт питания АМН СССР совместно с Институтом питания АН ГДР изучал вопросы эпидемиологии ожирения [11]. Было обследовано опросно-анкетным методом 4700 жителей г. Москвы и Московской области и 3000 жителей ГДР обоего пола в возрасте от 18 до 60 лет (работники как умственного, так и физического труда). Анализ структуры питания выявил типичные отклонения от рационального питания, главным образом избыточное потребление жиров: если в СССР доля жиров составляет 40% энергоценности суточного рациона при рекомендуемых 30—33%, то в ГДР этот показатель достигал 48%. Вместе с тем значительно снижено потребление растительных жиров. В дневном рационе много жи-

ропродуктов, в том числе мясных и кондитерских изделий.

Отмечено также недостаточное потребление свежих овощей и фруктов в обеих странах (около 150 г в день). Такая структура питания несомненно отразилась на частоте ожирения, которая в СССР и ГДР оказалась близкой (соответственно 26 и 30%). При этом среди обследованных женщин старше 60 лет ожирение было констатировано у 45%. При ожирении нарушаются различные стороны обмена веществ и функция большинства органов и систем. Избыточно калорийное питание повышает биосинтез жирных кислот, триглицеридов и холестерина. В жировой ткани и в крови увеличивается содержание преимущественно насыщенных жирных кислот, холестерина (увеличение потребности холестерина в количестве 100 мг на каждые 100 килокалорий повышает концентрацию холестерина в плазме на 120 мг/л), а также липопротеидов низкой плотности, которые рассматриваются как фактор риска атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС). В то же время снижается количество липопротеидов высокой плотности, которые считаются факторами «антириска» ИБС.

На XII Международном конгрессе педиатров (Манила, 1983 г.) были доложены результаты исследований, касающихся влияния характера питания детей на уровень липидов плазмы крови [130]. В ряде сообщений было отмечено, что количество и состав жира пищи, особенно жирных кислот, влияют на содержание общего холестерина в плазме крови детей раннего возраста. Исследования, проведенные в Японии, показали, что в последнее время в рационе детей содержится большое количество жира и сахара, множество разнообразных сладких напитков, мало овощей, преобладают мясо и птица над рыбой, много макаронных и сладких мучных изделий. Эти, теперь ставшие привычными, изменения в составе рациона являются причиной того, что за последние 10 лет уровень холестерина в крови у детей Японии повысился в среднем на 100 мг/л. При обследовании тучных детей отмечено, что если в результате рационализации питания удастся снизить массу тела на 10%, то у ребенка нормализуется уровень липидов в крови. В то же время у детей, получавших смеси на соевой основе (т. е. с малым содержанием холестерина), уровень холестерина был низким (см.: [130]).

Прямая зависимость между частотой коронарного атеросклероза и удельным весом в пищевом рационе животного жира и холестерина была, например, установлена при сопоставлении частоты смертности от инфаркта миокарда среди жителей Таллина и Душанбе. Значительно более высокое потребление животных жиров и низкое — растительных при недостаточности содержания в рационе овощей и фруктов коррелировало и с более высокой смертностью населения в Таллине по сравнению с жителями Душанбе, рацион которых содержит много растительного масла, овощей и плодов. Проведенные в последнее время эпидемиологические исследования показали также, что признаки скрытой недостаточности витамина С встречались весной у 93% и осенью — у 33% обследованных жителей Таллина, а ежедневное потребление витамина С составляло весной 35 мг, осенью 56 мг. Наряду с этим у 25% обследованных обнаружено повышенное содержание в крови холестерина (напомним, что при гиповитаминозе С это связывают со снижением его окисления в желчные кислоты), триглицеридов и липопротеидов низкой плотности, а у 10% — признаки ИБС. При этом чем больше потреблялось овощей, тем больше содержалось витамина С в крови и тем меньше холестерина [103].

Многие другие исследования показывают, что распространенное повсеместно в экономически развитых странах нерациональное питание является причиной значительного понижения уровня обеспеченности организма антиоксидантами. А это, в свою очередь, способствует нарушению обмена веществ, возникновению и отягощению течения ряда болезней цивилизации. Несомненно также, что антиоксидантную недостаточность усугубляет свойственная современному человеку гиподинамия.

Итак, сегодня не вызывает сомнений необходимость дальнейшего совершенствования структуры питания. В нашей стране уделяется большое внимание решению этой проблемы. Перед пищевой промышленностью ставится задача улучшать качество и ассортимент, наращивать производство пищевых продуктов, обогащенных белками, витаминами и другими полезными компонентами. Наряду с этим среди неотложных мер по усилению профилактики алиментарных заболеваний, укреплению здоровья населения и продления активной творческой жизни советских людей видное место должно уделяться гигиеническому воспитанию, распрост-

ранению гигиенических знаний и навыков. В данной связи уместно привести слова Главного государственного санитарного врача СССР П. Н. Бургасова из его выступления на XVIII Всесоюзном съезде гигиенистов и санитарных врачей (ноябрь 1984 г.): «Наша инертность в пропаганде рационального питания приводит к появлению всевозможных псевдонаучных рекомендаций. Они становятся известны населению гораздо чаще, чем научные основы рационального питания. Объясняется это тем, что рекомендации не доводят непосредственно до населения. Здоровье широких масс, каждого советского человека — государственная ценность» [15].

Глава 5

АТЕРОСКЛЕРОЗ, ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ СЕРДЦА И АНТИОКСИДАНТНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

Атеросклероз, механизмы развития и факторы риска

Как известно, в основе ишемической болезни сердца (ИБС), тромбозов, мозговых инсультов лежит атеросклероз, признанный болезнью века. Атеросклероз — хроническое поражение артерий, вызванное разрастанием множественных плотных узловатых утолщений стенки артерий (бляшек), суживающих ее просвет и способствующих образованию кровяного сгустка — тромба, который может закупорить сосуд. Развивается атеросклероз в результате сложных структурных изменений, происходящих в интиме (внутреннем слое) и в меди (мышечном слое) артерий, и связан с накоплением в кровеносных сосудах липидов и мукополисахаридов, разрастанием соединительной ткани и отложением кальция.

Начальной стадией атеросклеротических поражений артерий является появление липидных пятен и полосок, которые могут быть обнаружены уже в раннем детском возрасте в интиме аорты в виде плоских желтоватых участков. К 15 годам липидные пятна и полоски возникают в артериях сердца, а к 35—45 годам — в артериях мозга.

Они образуются за счет размножения гладкомышечных клеток, а также коллагеновых и эластических волокон и проникновения липопротеидов плазмы крови в сосудистую стенку. Считается, что липидные пятна и полосы могут подвергаться обратному развитию, однако в последующем на их месте образуются атеросклеротические бляшки, содержащие частично погибшие мышечные клетки, кристаллы холестерина, фосфолипиды и небольшое количество триглицеридов. В эксперименте на животных показано усиление отложений липидов при механических или химических повреждениях внутреннего слоя сосудов. К повреждающим факторам относят никотин, алкоголь, микробные токсины, некоторые лекарства, холестерин, а также различные сильные стрессорные воздействия.

Атеросклероз — в основном патология второй половины жизни человека. Однако его не следует рассматривать как неизбежное заболевание, связанное с процессами старения. Возрастные изменения сосудов являются фоном, который способствует развитию атеросклероза, но не обязательно его вызывает. Об этом свидетельствуют большие различия в распространенности атеросклероза среди людей одного возраста, проживающих в разных странах и относящихся к разным социальным группам, признаки атеросклероза у молодых лиц и отсутствие или весьма слабое развитие атеросклеротических изменений, наблюдаемое не так редко у долгожителей. Если еще в начале века атеросклероз сосудов сердца встречался весьма нечасто, то в настоящее время каждый пятый мужчина в нашей стране страдает ИБС. Среди москвичей инфаркт миокарда ежегодно возникает в возрасте 24—29 лет у трех из каждой тысячи мужчин, а в возрасте 40—50 лет — уже у 8 человек. Эпидемиологические исследования в США, Англии и других индустриальных странах показали, что распространенность инфаркта миокарда в однородных группах населения этих стран сходная и ИБС является одной из основных причин ранней нетрудоспособности, инвалидизации и смерти. Возросла также частота сосудистых заболеваний головного мозга. Особенно велика смертность от инсульта в Японии, где она достигла почти 25% от общей смертности. Вот почему сердечно-сосудистые заболевания, прежде всего инфаркт миокарда и инсульт, считают сегодня главными «могильщиками» наиболее деятельной части населения, а проблема атеросклероза имеет не только медицинский аспект, но приоб-

рстает и все возрастающее социально-экономическое значение. Это заставило Исполком Всемирной организации здравоохранения выступить перед народами и правительствами стран мира с предупреждением о том, что «ишемическая болезнь сердца достигла огромного распространения, поражая все более молодых людей. В последующие годы это приведет человечество к величайшей эпидемии, если мы не будем в состоянии изменить эту тенденцию путем настойчивых исследований по выяснению причин возникновения и профилактики этого заболевания» (цит. по: [104]).

Однако столь пессимистические прогнозы не исключают реальных возможностей борьбы с атеросклерозом и его последствиями. Такие возможности вытекают из следующих несомненных факторов. Во-первых, атеросклероз и связанные с ним сердечно-сосудистые заболевания присущи главным образом населению экономически развитых стран, ведущих во многом сходный образ жизни, и редко встречаются среди жителей развивающихся стран. Отсюда следует, что решающее значение в развитии атеросклероза имеют социально-экономические факторы. Во-вторых, обширными эпидемиологическими, а также углубленными клиническими исследованиями установлены корреляционные зависимости между образом жизни человека и распространенностью ИБС в различных странах мира и социальных группах. В-третьих, на развитие атеросклероза и его клинические проявления сильно влияют климатические условия, характер трудового процесса, особенности питания, степень физической активности и другие, изменяя которые можно воздействовать на течение заболевания в благоприятном направлении. В-четвертых, определены факторы риска ИБС и доказано их отягощающее влияние на те или иные проявления атеросклероза. Так, показано, что ослабление влияния отдельных факторов риска (например, повышенного уровня холестерина в крови и высокого кровяного давления) может снизить смертность от инфаркта миокарда, мозговых тромбозов и инсульта. В-пятых, хотя атеросклероз является болезнью человека и не возникает у животных в естественных условиях их жизнеобитания, он может быть воспроизведен у многих млекопитающих в определенных условиях эксперимента, что позволяет моделировать заболевание, устанавливать причинно-следственные связи его развития и научно обосновывать способы его профилактики и лече-

ния. Все это дает основание заключить, что изыскания эффективных способов снижения заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых болезней должны проводиться широким фронтом, с участием многих специалистов.

Такие исследования в настоящее время направлены на разработку гигиенических мер борьбы за здоровый образ жизни, действенных способов медицинского контроля за состоянием здоровья людей и путей его коррекции, поиск лекарственных противосклеротических препаратов с различными механизмами действия. Здесь решающий успех возможен тогда, когда одновременно будут реализованы многие мероприятия социально-экономического характера, включая меры по оздоровлению окружающей среды.

В нашей стране этой цели служат небывалые масштабы работ, осуществляемых в рамках целевых комплексных программ, включающих различные медико-биологические, медико-гигиенические, научно-технические и социально-экономические аспекты профилактики и лечения атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний.

Мы не ставим задачу осветить современное состояние такой многоликой проблемы, как атеросклероз, а попытаемся сконцентрировать внимание вокруг некоторых вопросов, непосредственно связанных с его происхождением. В частности, речь пойдет о роли взаимосвязи антиоксидантной недостаточности и состояния противooksидательной системы организма с факторами риска в возникновении и развитии атеросклеротического процесса и обусловленных им заболеваний. Так, роль алиментарного фактора в развитии атеросклероза была раскрыта в известной мере экспериментальными исследованиями еще в 1913 г., когда русские ученые Н. Н. Аничков и С. С. Халатов описали способы воспроизведения атеросклероза у кроликов путем добавки в корм ежедневно в течение 120—150 дней больших количеств холестерина (0.2—0.5 г на 1 кг массы тела). У животных повышался уровень холестерина в крови, увеличивалась свертываемость крови, в аорте обнаруживались очаговые отложения липидов и прорастание соединительной ткани. Холестериновая модель атеросклероза и в настоящее время служит для изучения патогенеза и экспериментальной терапии этого заболевания. В 1958—1959 гг. зарубежные исследователи Ламберт и Виганд продемонстрировали другой способ вос-

произведения атеросклероза у кроликов и морских свинок, состоящий в содержании их в течение 5—6 мес на полусинтетической диете (из корма исключался растительный компонент), где источником жира служило сливочное масло, в котором содержание насыщенных жирных кислот велико. Картина развития атеросклероза на этой, так называемой триглицеридной, модели была близка к предыдущей.

Для понимания роли пищевых и других факторов риска в происхождении атеросклероза, тромбозов и связанных с ними сердечно-сосудистых заболеваний необходимо хотя бы кратко рассмотреть состав липидов крови и их физиологическое значение. Известно, что холестерин вместе с триглицеридами и фосфолипидами вступает в связь с белками, образуя липопroteиды (ЛП). Благодаря растворимости образующихся комплексов создается возможность их циркуляции в крови. Таким образом, ЛП плазмы в крови являются переносчиками жиров и жироподобных веществ в организме. По своему химическому составу и физико-химическим свойствам они разнообразны и различаются по содержанию холестерина, триглицеридов и фосфолипидов, а также плотностью, размерами частиц и разделяются на 4 основных класса: 1) хиломикроны (ХМ); 2) липопroteиды очень низкой плотности (ЛПОНП), или пре- β -липопroteиды; 3) липопroteиды низкой плотности (ЛПНП), или β -липопroteиды; 4) липопroteиды высокой плотности (ЛПВП), или α -липопroteиды. Самые крупные частицы — ХМ, а самые мелкие — ЛПВП. Триглицериды находятся главным образом в составе ХМ и ЛПОНП, тогда как холестерин (ХС) в основном переносится кровью в форме ЛПНП. Многочисленными клиническими и эпидемиологическими исследованиями доказана прямая связь между уровнем ХС в крови, с одной стороны, и степенью развития атеросклероза сосудов сердца и ИБС — с другой. В атерогенезе в основном участвуют ЛПОНП и ЛПНП; эти два класса липопroteидов отличаются высоким содержанием ХС. Если высокая концентрация холестерина в составе ЛПОНП и ЛПНП усиливает степень риска возникновения атеросклероза и ИБС, то повышение концентрации ХС в классе ЛПВП и увеличение в крови этой фракции ЛП, напротив, носят защитный характер, препятствуют развитию атеросклероза и ИБС. Поэтому ХС в составе ЛПВП, или α -ХС, был назван антириск-фактором ИБС. Установлено снижение концент-

рации α -ХС при коронарном атеросклерозе и ИБС. Существует обратная зависимость между содержанием в сыворотке α -ХС и триглицеридов. От взаимоотношения названных классов ЛП и их физико-химических свойств во многом зависит, будут ли накапливаться в стенке сосуда липиды, т. е. будет или не будет развиваться атеросклероз. К числу факторов, понижающих уровень ЛПВП (α -ХС), относятся гипокинезия, ожирение, сахарный диабет, курение. Высокая физическая активность является фактором, способствующим повышению уровня α -ХС. На состав липидов в различных классах ЛП оказывает также влияние характер питания. Так, при потреблении пищи, богатой насыщенными жирными кислотами и ХС, возрастает содержание ХС в ЛПОНП и ЛПНП. Снижение уровня ЛПВП наблюдается под влиянием избыточного потребления углеводов, в особенности сахарозы, а также высокобелковых рационов. Применение противосклеротической диеты (употребление продуктов, богатых липотропными веществами, клеточными оболочками, солями калия и магния, витаминами С, Р, группы В, при ограниченном количестве сахара и поваренной соли) способствует улучшению липидного состава крови и повышает уровень ЛПВП.

Развитие атеросклероза связано не только со сдвигами в содержании и соотношении ЛП различной плотности и с изменениями их физико-химических свойств, но и с процессами, происходящими непосредственно в клетках сосудистой стенки и нарушающих ее плотность и метаболизм. В настоящее время наиболее распространенной теорией происхождения (патогенеза) атеросклероза является липидно-инфильтративная, которая в значительной мере базируется на липидной (холестериновой, триглицеридной) модели его воспроизведения. Однако она не дает объяснения ряду фактов: возможности образования атеросклеротических бляшек без предшествующего первичного нарушения структуры тканей сосудистой стенки, отсутствию при экспериментальном холестериновом атеросклерозе очагов язв, кальциноза и тромбоза, а также слабому терапевтическому эффекту лекарств, вызывающих снижение уровня холестерина в крови.

§

В последнее десятилетие привлекают все большее внимание нарушения процессов свободнорадикального окисления при атеросклерозе. Перекиси липидов и белков в атеросклеротических артериях человека были впервые обнаружены в 1952 г. Глэвидом и соавторами (цит. по: [30]). Позже эти данные были подтверждены в ряде других работ. Так, в конце 60-х годов группа японских исследователей (цит. по: [30]) сообщила, что при холестериновом атеросклерозе у кроликов в тканях аорты, в легких и крови имеет место накопление перекисных соединений. У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией, вызванной их содержанием на атерогенной диете (добавление 15% сливочного масла или маргарина и 0.5% ХС), установлено увеличение содержания в липопротеидах плазмы крови гидроперекисей свободного ХС (в 2.5 раза) и эфиров холестерина (в 1.75 раза) [71]. Констатированы также резкая активация ферментативного (НАДФ·Н-зависимого) перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах печени и накопление в них гидроперекисей и других продуктов ПОЛ. Одновременно обнаружено снижение активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы) в аорте и печени, что создает условия для роста продуктов пероксидации. Автор исследования предположил, что при атеросклерозе в результате нарушения нормального окисления ХС в желчные кислоты и усиления его перекисного окисления происходит увеличение синтеза ЛП, содержащих в своем составе перекиси ХС. Проникая в сосудистую стенку, последние вместе с вторичными продуктами их окисления участвуют в образовании соединений Шиффа с белками и способствуют развитию соединительной ткани и ряду других изменений, свойственных атеросклерозу.

На различных стадиях атеросклероза (616 наблюдений) нарушение свободнорадикального ПОЛ и их антиоксидантной активности (АОА) обнаружила В. И. Калмыкова [55]. Так, на первой стадии процесса суммарное содержание перекисных соединений увеличивается в 20 раз по сравнению со здоровыми людьми, а на третьей стадии оно превышает нормальный показатель в 27 раз. Параллельно с этим оказалась сниженной АОА липидов сыворотки (рис. 5). Заслуживает внимания сопоставление результатов исследования 75 умерших от осложнений атеро-

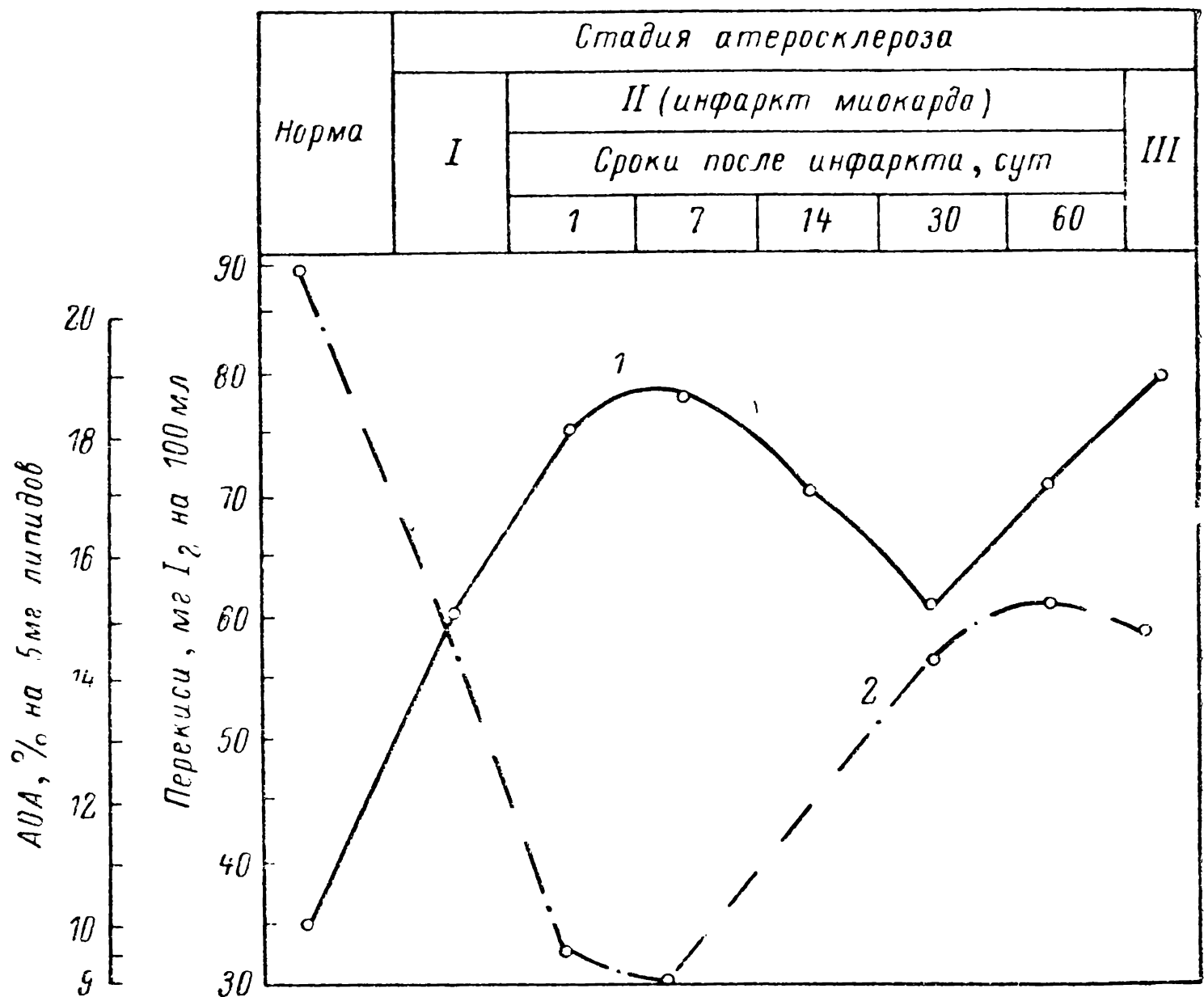


Рис. 5. Содержание продуктов перекисного окисления (1) и уровень антиокислительной активности липидов (2) в сыворотке крови больных атеросклерозом различных стадий (по: [56]).

склероза и 19 погибших от смертельных травм без признаков атеросклероза. Оказалось, что суммарное содержание липоперекисей в интиме аорты у больных атеросклерозом было в несколько раз выше, чем у лиц второй группы. Одновременно в первой группе было обнаружено снижение АОА липидов аорты, причем оно было более выражено у умерших в течение первых 7 суток после инфаркта. В другой работе [72] было показано, что у больных атеросклерозом с признаками ИБС (114 человек) в отличие от практически здоровых мужчин (30 человек) того же возраста наряду с повышением в крови уровней общих липидов, ХС и β -ЛП наблюдалось увеличение (в 2—3 раза) содержания гидроперекисей и вторичных продуктов ПОЛ, а также снижение активности глутатион-пероксидазы.

Однако на основании этих данных еще нельзя достаточно достоверно говорить о роли перекисных механизмов в генезе атеросклероза: они свидетельствуют лишь о факте

активации ПОЛ при атеросклерозе и недостаточной АОО тканей. Очевидно, что прямым доказательством может служить воспроизведение атеросклероза непосредственно продуктами ПОЛ либо путем создания в организме состояния антиоксидантной недостаточности (АОН) другим способом. В литературе имеются данные о том, что у кроликов избыточное накопление липидов в аорте можно вызвать многократными подкожными инъекциями гидроперекиси линолевой кислоты (цит. по: [30]).

Исследованиями, выполненными в лаборатории известного канадского ученого Селье, а впоследствии и другими экспериментаторами, показано, что токсическое действие продуктов окисления холестерина и ряда производных витамина D вызывает повреждение гладкомышечных волокон внутреннего слоя артерий и отложение в них солей кальция (цит. по: [136]). При этом атеросклероз был в наибольшей степени выражен в сосудах сердца и его картина отличалась от холестериновой модели атеросклероза меньшими отложениями липидов.

Представляют также интерес данные о состоянии артериальной стенки при Е-авитаминозе. Показано, что у крыс, содержащихся на диете, лишенной витамина Е, через 140—190 дней развиваются атеросклеротические изменения в аорте. Более выраженные поражения артерий (большие атеросклеротические бляшки, фиброз) были описаны в других исследованиях при Е-авитаминозе у крыс и добавлении к корму 15—20% гидрогенизированного хлопкового масла, предварительно лишенного токоферолов, или полной замене жирового компонента диеты сливочным маслом, которое, как известно, бедно α -токоферолом [93]. Аналогичные изменения в сосудах были констатированы и у кроликов через 220—270 дней содержания их на рационе, лишенном витамина Е. При этом явления атеросклероза предупреждались введением животным α -токоферола [28]. При недостаточности другого витамина антиоксидантного действия — аскорбиновой кислоты — у морских свинок через 6 мес также обнаруживаются атеросклеротические изменения в сосудах. Они быстрее наступают при получении животными корма, одновременно лишенного токоферола, аскорбиновой кислоты и полифенолов. Наконец, следует отметить, что сочетание дефицита витаминов Е, С и биофлавиноидов с избытком в рационе холестерина или других липидов вызывает у кроликов типичную картину атеросклероза при одновре-

менной активации ПОЛ в сосудистой стенке уже через несколько месяцев [28]. В литературе есть также сообщения об атерогенном действии недостаточности глутатионпероксидазы и серосодержащих аминокислот [72]. Таким образом, в формировании атеросклеротического процесса имеет значение дефицит биоантиоксидантов.

В 1971 г. О. Н. Воскресенский и В. В. Витт описали перекисную модель атеросклероза у кроликов путем исключения из рациона токоферола, аскорбиновой кислоты, биофлавиноидов и некоторых других антиоксидантов при добавлении в корм окисленного маргарина или рафинированного кокосового масла. В этих условиях у животных в течение 100 дней развиваются явления АОН, повышается уровень липидов в крови и возникают характерные признаки атеросклероза. Повреждение сосудистой стенки, как полагают авторы, имеет в своей основе разрушение накапливающимися в артериальной стенке перекисями липидов (главным образом перекисями лецитина) эластического каркаса сосудов с последующим липондозом и отложением кальция в очагах деструкции. Этим данная модель атеросклероза отличается от холестериновой и триглицеридной, при которых преимущественно наблюдается отложение липидов в сосудах без очагов обызвествления. Примечательно, что сходные с наблюдаемыми у человека при атеросклерозе патологические изменения, протекающие на фоне АОН, имеют место не только в сосудах, но и в системе свертывания крови, а также в самой сердечной мышце. На это указывают снижение (примерно в 3 раза) устойчивости эритроцитов к гемолитическому действию перекиси водорода, резкое падение содержания токоферола в плазме крови и аорте, увеличение уровня малонового диальдегида в печени и склеротические изменения в аорте и миокарде. Кроме того, в ряде органов повышается содержание окисленных форм пиридиннуклеотидов, дегидроаскорбата и ускоряется выведение с мочой продуктов окисления полифенолов.

Детальные биохимические и морфологические исследования разных моделей атеросклероза, проведенные О. Н. Воскресенским с сотрудниками [30], показали, что у кроликов при холестериновой и триглицеридной модели, так же как и при перекисной модели, имеются признаки АОН (значительное снижение уровня токоферола в плазме крови и в стенке аорты, а также повышение в 2—2.5 раза содержания малонового диальдегида в печени и аор-

те). При этом проявлениями синдрома АОН у кроликов с холестериновым атеросклерозом было снижение в крови, аорте, миокарде и печени активности каталазы и пероксидазы, уровня восстановленного глутатиона и никотинамидных коферментов. Любопытно, что аналогичные изменения активности противоперекисных ферментов и истощение резервов биоантиоксидантов обнаружены у больных атеросклерозом.

Таким образом, холестериновый и триглицеридный атеросклероз развивается при явлениях системной интенсификации ПОЛ, Е-гиповитаминоза и других характерных признаках АОН. Иными словами, перекисный механизм играет роль и при воспроизведении липидной модели атеросклероза.

В то же время при атеросклерозе, как уже отмечалось, наблюдается снижение скорости ферментативного превращения холестерина в желчные кислоты, что способствует накоплению его в организме. Уместно напомнить, что мощными ингибиторами ферментативного гидроксилирования ХС являются продукты перекисного окисления самого холестерина, особенно 7-кетохолестерин, а активаторами этого процесса — тиоловые антиоксиданты. Отсюда правомочно предположение, что снижение скорости образования желчных кислот из ХС может происходить в результате активирования перекисных механизмов окисления ХС и накопления его перекисных соединений. При АОН, свойственной атеросклерозу, возрастает ПОЛ, что нарушает основной путь удаления ХС из организма — превращение его в желчные кислоты, увеличивает холестериноз и образование перекисных соединений липидов. Все это в свою очередь отягощает проявления атеросклероза.

Итак, между перекисным окислением и фондом холестерина в организме существует определенная корреляция. В связи с этим можно полагать, что накопление ХС путем торможения его превращения в желчные кислоты способно индуцировать ПОЛ. Поэтому антиоксиданты, в особенности тиоловые соединения, вероятно, будут снимать блокаду ферментативного превращения ХС, открывать физиологический путь его окисления и тем обрывать этот порочный круг.

Обобщая литературные материалы и собственные экспериментальные и клинические наблюдения, В. И. Калмыкова [55] также приходит к заключению, что нарушения липидного обмена при атеросклерозе характеризуются

не только стойким повышением уровня липидов в крови, но и усилением их перекисного окисления и снижения АОО. Эти изменения имеют место еще до клинических проявлений болезни и прогрессируют в дальнейшем. Особенно сильно они выражены на конечной стадии процесса.

Согласно перекисной теории атеросклероза, заболевание происходит в результате срыва физиологической антиоксидантной системы, когда цепной лавинообразный процесс свободнорадикального окисления (СРО) липидов вызывает комплекс патологических проявлений, названный *синдромом пероксидации*. Он характеризуется повреждением мембран клеток и внутриклеточных органелл, нарушением активности антиоксидантных и ряда мембранных ферментов, накоплением первичных и вторичных продуктов ПОЛ в крови и различных органах. СРО способствует распаду липопротеидов и фосфолипидов, вызывает распад эластических волокон, индуцирует фибропластические процессы и старение коллагена. При этом наиболее уязвимыми являются мембраны клеток эндотелия артерий и эритроцитов, потому что в их составе много легкоокисляемых фосфолипидов и одновременно они контактируют с относительно высокими концентрациями кислорода. Теперь уже получено много экспериментальных и клинических данных, позволяющих считать, что патобиохимические и патоморфологические изменения, наблюдаемые при синдроме пероксидации в артериях и в крови, в эндокринной системе и во внутренних органах, во многом сходны с проявлениями атеросклероза и старения и являются следствием недостаточности физиологической антиоксидантной системы. При этом характерная для атеросклероза волнообразность течения процесса, — смена фаз прогрессирования и регрессирования — соответствует периодам срыва и стабилизации антиоксидантной системы. Каждый такой период оставляет стойкие следы в стенке сосудов. Перекисный механизм предполагает далее, что наряду с традиционной последовательностью этапов патоморфологических изменений в крови и артериях (гиперлипидемия → липидоз → фиброз → кальциноз) возможно другое начальное звено этого процесса, а именно — разрушение эластического слоя сосуда, которое влечет за собой его фиброз и затем кальциноз. Однако и в том и в другом случае может быть единый пусковой фактор — синдром пероксидации. Дополнительным аргументом в пользу зна-

Факторы срыва антиоксидантной защиты (по: [30])

Условия наблюдения	Объект наблюдения	Проявление синдрома перекисидации
А л и м е н т а р н ы й д е ф и ц и т а н т и о к с и д а н т о в		
Безантиоксидантный рацион	Крысы, кролики	Накопление продуктов СРО и снижение уровня биоантиоксидантов в тканях
Зимне-весенний период	Люди, крысы	Накопление продуктов СРО и снижение уровня антиоксидантов в крови

С т р е с с

Эмоционально-болевые воздействия	Крысы	Накопление продуктов СРО в тканях
Иммобилизация в течение 6—12 ч на фоне обычного или безантиоксидантного рациона	Кролики, крысы	Накопление продуктов СРО и снижение уровня биоантиоксидантов в тканях (наиболее выражено при иммобилизации животных, находящихся на безантиоксидантном рационе)
Эмоциональное напряжение	Люди	Накопление продуктов СРО в тканях

чения свободнорадикальных механизмов в происхождении атеросклероза могут служить приведенные данные о роли перекисного окисления в поражении сосудистой стенки и развития кальциноза при D-гипервитаминозе у человека и различных животных. Если рассматривать известные факторы риска атеросклероза с точки зрения перекисной теории его происхождения, то, как следует из табл. 4, явления АОН наблюдаются и у людей, и у животных при гиподинамии, в зимне-весенний период года и при эмоциональном стрессе. Что касается снижения двигательной активности, то оно признается одним из основных факторов

риска в происхождении атеросклероза. В частности, теперь уже убедительно показано, что при гиподинамии повышается уровень в крови липидов и атерогенных липопротеидов, усиливается ПОЛ, могут наступать явления АОН. Тем самым малоподвижный образ жизни создает условия для ускорения атеросклероза.

Известно, что зимне-весенний период обычно характеризуется наименьшей обеспеченностью организма витаминами-антиоксидантами, что несомненно способствует проявлению синдрома пероксидации. В эти месяцы наблюдаются «пик» инфарктов миокарда и наиболее высокая смертность от ишемической болезни сердца и мозга. Для оценки значимости фактора сезонности в провоцировании антиоксидантной недостаточности О. Н. Воскресенским с сотрудниками [30] был проведен 30-дневный эксперимент на белых крысах в феврале—марте и июле—августе. Животные были разделены на 4 группы: I — интактная; II — подвергающаяся стрессорному воздействию (ежедневная 6-часовая иммобилизация); III — содержащаяся на полунатуральном безантиоксидантном рационе; IV — с комбинированными условиями II и III групп. Судя по данным определения в крови и печени восстановленного и окислительного глутатиона, аскорбиновой кислоты, активности каталазы и СОД, интенсивности перекисного гемолиза эритроцитов и уровня малонового диальдегида, у животных всех серий оказались нарушенными различные звенья антиоксидантной системы при постановке эксперимента весной, т. е. в период низкого поступления природных антиоксидантов; в большей степени это отмечалось во II и III группах.

В настоящее время доказано, что эмоциональный стресс является атерогенным фактором. На основании эпидемиологических исследований установлено, что у людей, профессия которых требует постоянного эмоционального напряжения, частота атеросклероза сосудов сердца и ИБС особенно высока. Так, смертность от ИБС среди врачей-хирургов в 10 раз выше, чем, например, у садовых рабочих. Повышенную заболеваемость атеросклерозом связывают с систематическим воздействием психоэмоционального стресса и неправильным питанием, в частности с дефицитом ряда витаминов. Исследованиями профессора Ю. Ф. Удалова и сотрудников было показано, что у лиц молодого возраста, профессия которых связана с сильными эмоционально-психическими нагрузками (летчики, пара-

спютисты и др.), существенно изменяется баланс пиридоксина, витаминов Е, С, рибофлавина и других жизненно важных биомолекул. При этом часто (у 29—72% обследованных) обнаруживается биохимическая предрасположенность к атеросклерозу — повышается в крови уровень холестерина, β -липопротеидов (ЛПНП) и триглицеридов.

Основным проявлением атерогенного действия стресса считается повышение в крови уровня липидов, в частности холестерина. Вместе с тем, как было показано в работах Ф. З. Меерсона [74], эмоционально-болевой стресс (ЭБС) вызывает в организме животных активацию ПОЛ. Показательны в этом отношении опыты на кроликах. Для воспроизведения ЭБС животных после суточного голодания помещали в камеру, через пол которой, за исключением платформы в центральной части, пропускался электрический ток (4 мА). У крыс быстро вырабатывался условно-оборонительный рефлекс избегания, и они постоянно находились на платформе в центре камеры. После этого через пол платформы наносились короткие сильные электроболевые раздражения (ток 6 мА длительностью 2 с) через произвольные промежутки времени в течение 6 ч. Таким образом, для этой модели ЭБС характерен, во-первых, конфликт между выработанным условным рефлексом избегания электрического раздражителя (путем ухода к центру камеры) и безусловным болевым воздействием на платформе и, во-вторых, — напряженное ожидание болевого раздражения из-за того, что сильные удары тока на платформе наносились через случайные интервалы времени. После завершения стрессорной ситуации у животных были обнаружены такие характерные проявления стресс-синдрома, как высокая концентрация норадреналина и кортикостерона в надпочечниках. Одновременно было констатировано увеличение содержания продуктов ПОЛ в миокарде, скелетных мышцах, головном мозге и аорте. Так, через 2 ч интенсивность флюоресценции оснований Шиффа в липидах аорты возросла примерно в 2.5 раза и спустя двое суток оставалась на этом уровне.

В последние годы все больше внимания уделяется выявлению роли производственных вредностей в развитии, течении и исходе таких неспецифических заболеваний, как атеросклероз, гипертоническая болезнь, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, хронические неспецифические заболевания легких.

Еще в 1958 г. в Ленинградском НИИ гигиены труда и профессиональных заболеваний М. А. Ковнадким и его сотрудниками (Л. Н. Грацианская, В. А. Васильева, Р. Н. Вольфовская и др.) (см. статьи в книгах: [24, 111]) было предпринято клиническое и экспериментальное изучение влияния некоторых химических профессиональных факторов на развитие атеросклероза. На основании обобщения результатов обследования лиц, подвергавшихся длительному воздействию фтористых соединений, окиси углерода, свинца, сероуглерода, М. А. Ковнадкий и соавторы пришли к заключению, что эти токсичные вещества способствуют возникновению ИБС, которая в большинстве случаев сочетается с повышением уровня ХС в крови и другими признаками нарушения липидного обмена, свойственными атеросклерозу. Этот вывод был подтвержден в опытах на животных в нашей лаборатории Г. Н. Кузьминской [67], которая показала, что отравление фтором и свинцом способствует развитию атеросклеротического процесса. Эксперимент был поставлен на 180 кроликах, которым в течение 3 недель добавляли в корм ХС. Затем, после определения содержания ХС в крови, животных разделили на пары с близким уровнем ХС и продолжали ежедневно его введение еще в течение 15—18 недель. Одновременно часть животных начинали отравлять фтором или свинцом примерно в течение 3 мес в дозах, вызывающих хроническую интоксикацию средней тяжести. Выраженность атеросклеротического процесса оценивали по концентрации в крови холестерина, по размеру площади аорты, пораженной атеросклеротическим процессом, содержанию липидов в ее стенке, а также по патоморфологическим изменениям в аорте, сердце, почках.

Как видно из представленных в табл. 5 данных, у кроликов, получавших холестерин на фоне интоксикации фтором и свинцом, уровень холестерина в крови был наивысшим. На бóльшую выраженность атеросклеротического процесса под влиянием воздействия фтора и свинца указывает и более значительный липидоз аорты, артерий сердца и почек у кроликов, получавших холестерин совместно с ядом, чем при действии одного холестерина. Примечательно, что у части животных этой группы в среднем слое стенки аорты были обнаружены очаги обызвествления, которые не были найдены при действии одного холестерина. В связи с результатами этих исследований нам представляется важным оценить возможные ме-

**Влияние отравления свинцом и фтором на развитие
атеросклероза у кроликов (по: [67])**

Проявление атеросклероза	Животным вводили		
	холестерин (контроль)	свинец	свинец и холестерин
Содержание холестерина в крови, мг/100 мл	61 ± 40	63 ± 10	790 ± 40
Содержание липидов в аор- те, мг/100 г	9.7 ± 0.8	5.2 ± 0.3	17.9 ± 2
Площадь поражения атеро- склерозом аорты, % от всей площади интимы	26 ± 5		43.3 ± 6.5

Т а б л и ц а 5 (продолжение)

Проявление атеросклероза	Животным вводили		
	холестерин (контроль)	фтор	фтор и холе- стерин
Содержание холестерина в крови, мг/100 мл	73 ± 10	86 ± 10	555 ± 40
Содержание липидов в аор- те, мг/100 г	4.1 ± 0.5		6.3 ± 0.8
Площадь поражения атеро- склерозом аорты, % от всей площади интимы	23.4 ± 6		36.3 ± 8

ханизмы атерогенного эффекта изучавшихся неблагоприятных химических агентов с позиции их повреждающего действия на антиоксидантную физиологическую систему.

В литературе приводятся прямые и косвенные доказательства того, что при интоксикации фтором нарушаются различные звенья противоокислительной защиты, в частности уменьшается активность каталазы и супероксиддисмутазы в крови и пероксидазы в печени, увеличивается продуцирование супероксид-аниона нейтрофилами, повышается уровень окисленной формы глутатиона и снижается количество аскорбиновой кислоты в крови и в печени [123]. Кроме того, фтор повышает уровень малонового диальдегида и содержание диеновых конъюгатов в β - и пре- β -липопротеидах сыворотки крови. Иными словами, интоксикация фторидами сопровождается увеличением

уровня перекисных соединений и истощает резерв биоантиоксидантов, что указывает на возникновение синдрома перекисаации.

Что касается свинца, то о возможной интенсификации процессов СРО при его воздействии на организм свидетельствуют, в частности, исследования механизма разрушения мембранных структур эритроцитов. Эритроцитарная модель давно и успешно используется как объект для изучения процессов СРО. Мы уже отмечали, что красные кровяные клетки постоянно функционируют при высокой концентрации кислорода, в них содержится больше, чем во всех других клетках, железа — катализатора окислительных реакций, их мембраны богаты полиненасыщенными жирными кислотами. Вот почему в них создаются условия для развития реакций, при которых образуются продукты перекисного окисления. Однако наличие антиокислительной системы в мембранах эритроцитов препятствует интенсификации этого процесса, который в норме протекает на очень низком уровне. В этой связи представляют интерес данные болгарских авторов [98], установивших на модельной системе окисления липосом, что ионы свинца проявляют в эритроцитах проокислительное действие, которое тормозится супероксиддисмутазой и каталазой. При этом свинец ускоряет процессы ПОЛ, что, в свою очередь, приводит к изменению состава липидов мембран, снижению их вязкости и механической устойчивости к действию таких гемолитических факторов, как повышенное осмотическое давление крови, изменение ее рН и др. Подтверждением роли ПОЛ в механизме гемолитического действия свинца служат данные названных авторов о том, что этот токсический эффект значительно ослабляется в присутствии антиоксидантов (токоферола, бутилокситолуола) и при снижении содержания кислорода в эритроцитах. Имеется ряд других фактов, позволяющих говорить о нарушении функции физиологической антиоксидантной системы при интоксикации свинцом. Известно, что свинец как тиоловый яд подавляет активность SH-содержащих ферментов и восстановленного глутатиона, играющих существенную роль в стабилизации биомембран, нарушает обмен никотиновой кислоты и синтез НАДН и НАДФ·Н. Характерным для свинцового отравления является повышение в сыворотке крови уровня ионов Fe, а также признаки С-витаминной недостаточности. Это дает основание полагать, что свинец нарушает перенос кислорода в цепи

пиридиннуклеотиды — глутатион — аскорбиновая кислота, которая обеспечивает «гашение» свободных радикалов и служит донором водорода для ферментативного превращения перекисных соединений. Все это приводит к явлениям АОН.

В последние годы появились данные об атерогенном действии формальдегида, контакт с которым имеет место на производствах, связанных с его синтезом и получением на его основе пластических масс, химических волокон и различных других материалов. В литературе есть сведения, что у лиц, длительно работавших в условиях загрязнения воздушной среды формальдегидом, наряду с другими нарушениями в организме наблюдалось повышение в сыворотке крови уровня холестерина, β -липопротеидов, снижение соотношения фосфолипиды/холестерин. У этих работников чаще возникала ИБС. О том, что неблагоприятное воздействие повышенных концентраций формальдегида может интенсифицировать ПОЛ и вызывать АОН, свидетельствует нарушение этим ядом обмена сероорганических соединений, в частности снижение в крови уровня метионина, цистеина и цистина, общего и восстановленного глутатиона, содержания SH-групп, уменьшение концентрации серы в моче. Кроме того, формальдегид способствует развитию недостаточности ряда антиоксидантных витаминов (С, Е, В₆, РР), понижению устойчивости эритроцитов по отношению к перекисям, снижению активности ряда антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы. В этой связи надо отметить, что длительное воздействие формальдегида на животных приводит к характерным для атеросклероза сдвигам в липидном составе крови, особенно тогда, когда они содержались на экспериментальном рационе с повышенным количеством жира и дефицитом витамина С.

На основании собственных исследований и литературных данных О. Д. Голощапов разработал научно обоснованный рацион профилактического питания для рабочих, занятых в производстве формальдегида [79]. Этот рацион обогащен продуктами, богатыми антиоксидантными витаминами, белками с высоким уровнем серосодержащих аминокислот; кроме того, в него дополнительно включены комплекс витаминов (С, Р, В₁, В₆, РР, А, Е), липамид, глутаминовая кислота и метионин. Было установлено, что у рабочих цеха формалина, получавших такое специальное питание в течение года, улучшилось общее самочувствие.

вие, уменьшились многие проявления неблагоприятного действия формалина. Так, у 80% рабочих исчезли начальные признаки поливитаминой недостаточности, отмечено восстановление уровня ряда биоантиоксидантов и нормализовался липидный спектр сыворотки крови. Изложенное дает основание причислять формальдегид (как фтор и свинец) к профессиональным химическим факторам риска атеросклероза, воздействие которого приводит к развитию заболевания на фоне АОН организма.

Таким образом, возникновение и развитие атеросклероза определяется взаимодействием многих структурных и биохимических сдвигов, формирующихся в стенке сосудов и кровеносном русле. При этом в основе ускорения развития атеросклероза (из-за повреждения эндотелия токсичными веществами либо различными стрессорными воздействиями) может лежать единый механизм — интенсификация ПОЛ. Тот же механизм включается при накоплении в сосудистой стенке холестерина, ряда продуктов его перекисного окисления и других перекисей липидов. Добавим к этому, что чрезвычайно активные липидные перекиси, по всей вероятности, способны также вызвать образование иммуногенных липопротеидов (антигенов) и индуцировать антитела против самих себя. В свою очередь, комплекс антиген—антитело может повредить эндотелий сосудистой стенки и вызвать усиленное размножение гладкомышечных волокон с развитием атеросклеротической бляшки.

Основываясь на исследованиях, выполненных главным образом в последние 15 лет у нас и за рубежом, О. Н. Воскресенский [27] сформулировал следующие положения перекисной концепции атерогенеза.

1. Факторы риска (калоригенные продукты, гиподинамия, стресс, алиментарная недостаточность витаминов-антиоксидантов) интенсифицируют ПОЛ и, вызывая состояние АОН, включают перекисные механизмы атерогенеза.

2. При явлениях недостаточности антиоксидантной системы усиление процессов СРО в наибольшей степени выражено в артериях (контакт с относительно высокими концентрациями кислорода), что вызывает нарушения структуры фосфолипидов эластических волокон и распад фибрилл, а также фиброз.

3. Перекисные механизмы принимают участие в повы-

шении в крови уровня липидов и особенно холестерина, отложении липопротеидов в артериях (липидозе) и агрегации (склеивании) тромбоцитов.

4. Перекисные механизмы атеросклероза могут быть первичными и вторичными. Первичны они у людей преклонного возраста, для которых характерно снижение активности антиоксидантной системы. Это обуславливает превалирование перекисного типа течения атерогенеза, его преимущественно деструктивный характер. Вторичную роль играет перекисный механизм у людей относительно молодого возраста при атеросклерозе, проявляющемся инфильтративным типом изменений.

Однако следует иметь в виду, что представленная концепция не является общепризнанной. Противники ее — это в первую очередь сторонники липидно-инфильтративной теории атерогенеза. Но нельзя не согласиться с теми, кто считает, что перекисный механизм не только не исключает основные положения этой теории, но, наоборот, дополняет ее. Можно согласиться с авторами перекисной гипотезы о том, что она позволяет выявить общие патогенетические звенья, связывающие атеросклероз, тромбоз, стресс и старение. Кроме того, эта концепция дает возможность дифференцировать и конкретизировать различные клинико-биохимические варианты течения атеросклероза: гиперлипемический, перекисный и скрытый. Наконец, перекисная концепция теоретически обосновывает применение антиоксидантов в качестве эффективных средств профилактики и лечения атеросклероза. В настоящее время уже имеются данные о противоатеросклеротической эффективности ряда природных и синтетических антиоксидантов.

Положительный эффект при атеросклерозе I—III степеней оказывает ретинол, назначаемый по 0.75—1 мг 1 раз в день в течение 3—6 недель [56]. Наряду с улучшением общего состояния больных и функционального состояния сердечно-сосудистой системы отмечено снижение на 23% повышенного уровня перекисных соединений в сыворотке крови и повышение на 33% (у больных I стадией) АОА липидов. Одновременно констатировано повышение геомолитической стойкости эритроцитов, что указывает на уменьшение синдрома пероксидации. Более выраженный терапевтический эффект проявляет препарат аевит (содержит 1 мг ретинола и 100 мг α -токоферола ацетата) — по отношению его влияния как на клинико-фи-

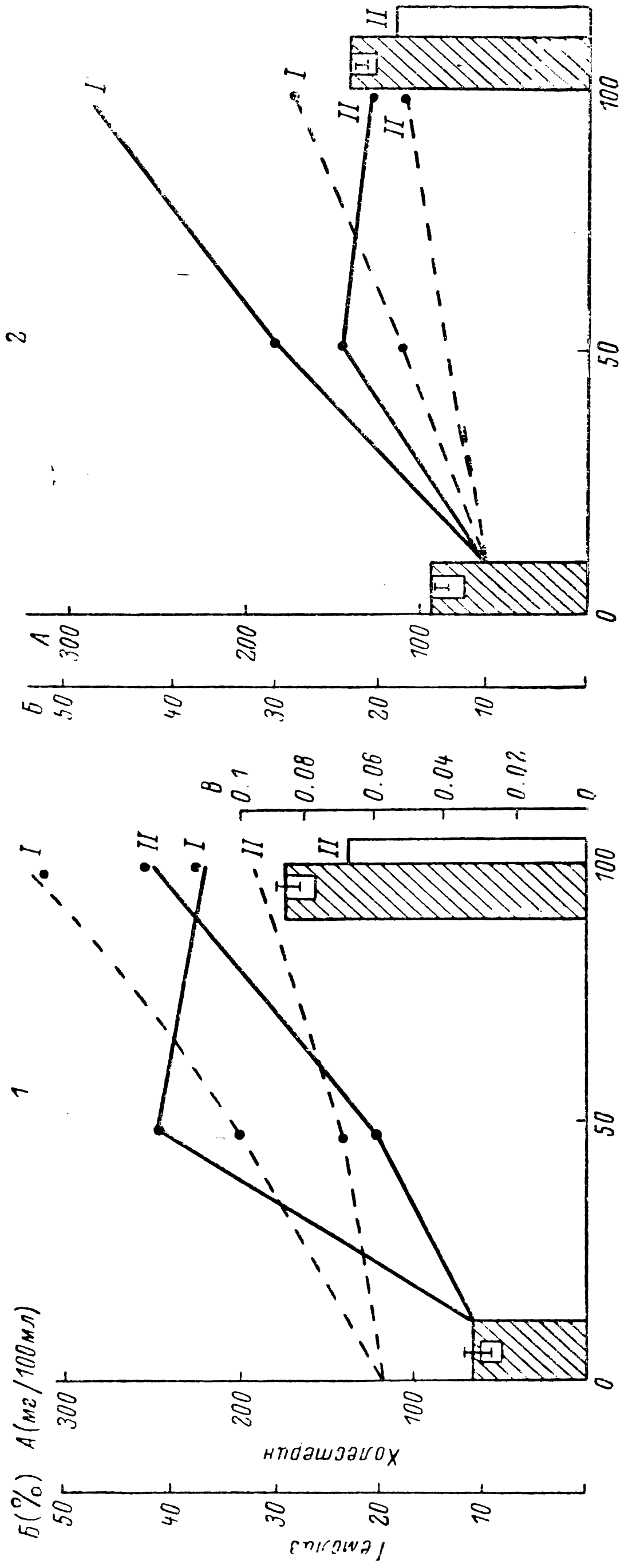


Рис. 6. Содержание холестерина в сыворотке крови (A), перекисная резистентность эритроцитов (B) и уровень малонового диальдегида (B) в печени кроликов с экспериментальным перекисным атеросклерозом, получавших аскорбиновую кислоту (I) и рутин (II) (по: [27]).

I — контроль, II — опыт; сплошная линия — концентрация холестерина в сыворотке крови (мг/100 мл), пунктир — перекисная резистентность эритроцитов (%); заштрихованные столбцы — уровень малонового диальдегида (ед. оптической плотности) в контроле, светлые — в опыте; по оси абсцисс — дни.

физиологические показатели сердечно-сосудистой системы и состояние обмена липидов, так и на процессы ПОЛ.

Хорошие результаты были получены также у больных ИБС («перекисный» вариант) в случае лечения комплексным антиоксидантным препаратом, содержащим токоферол, аскорбиновую кислоту и рутин. Благоприятное действие на больных атеросклерозом и ИБС оказывает антиоксидант дибунол [40]. Отмечено, что после трехнедельного курса лечения на фоне понижения интенсивности процессов ПОЛ и уровня ЛПНП в крови улучшились показатели свертывающей системы крови, сердечной деятельности и кровообращения в сосудах сердца. При атеросклерозе мозговых сосудов под влиянием лечения дибунолом и в большей степени в результате применения комбинации α -токоферола, аскорутина и глутаминовой кислоты было отмечено значительное улучшение субъективного состояния больных, показателей гемодинамики в мозговых сосудах, а также снижение содержания ЛПНП в крови и активности процессов ПОЛ [39].

При экспериментальном атеросклерозе у кроликов, вызванном содержанием животных на атерогенной диете, оказалось, что витамин С тормозит повышение содержания холестерина в крови и предупреждает поражение аорты атеросклерозом. Рутин в аналогичной постановке опыта предупреждает повышение содержания общих липидов и холестерина в большей степени, чем аскорбиновая кислота, и кроме того, этот препарат снижает уровень β -липопротеидов в сыворотке крови и уменьшает, правда менее выражено, чем витамин С, степень поражения аорты атеросклерозом. Наряду с этим оба эти антиоксиданта препятствуют перекисной резистентности эритроцитов и снижению содержания малонового диальдегида в крови (рис. 6) [27].

Синдром пероксидации и возникновение ишемических повреждений сердца

В последние годы достигнуты определенные успехи в применении методов молекулярной биологии к изучению изменений, развивающихся в сердце при ИБС, в том числе и при инфаркте.

Многие работы последних лет свидетельствуют, что ишемия и инфаркт сопровождаются усилением СРО липидов в кардиомиоцитах и оно тем более выражено, чем выше степень их повреждения. Поэтому вполне оправданно этот биохимический сдвиг считать одним из достоверных первичных звеньев механизма ишемического поражения сердца. Роль перекисного окисления липидов в развитии заболеваний сердца проявляется по-разному: этот показатель может изменяться на самых ранних стадиях болезни и быть одной из основных причин ее возникновения и развития, либо, наоборот, усиление перекисного окисления может наблюдаться в поздние сроки и быть следствием выраженных деструктивных изменений в клетке. Активация процесса образования липидных перекисей в кардиомиоцитах при ИБС, и в особенности при остром инфаркте миокарда, сопровождается ускоренным распадом фосфолипидов, значительным (примерно на одну треть) уменьшением их количества в клеточных мембранах и ростом концентрации свободных жирных кислот. В свою очередь это становится источником резкого увеличения проницаемости мембран саркоплазматического ретикулума клеток миокарда для ионов кальция, которые, как известно, обеспечивают смену сокращенного и расслабленного состояния сердечной мышцы: когда концентрация Ca^{2+} внутри кардиомиоцита достигает строго определенной величины, то возникает сокращение и, наоборот, выход Ca^{2+} из клетки приводит к расслаблению. Очень важно в данной связи подчеркнуть, что, как теперь установлено, утрата или снижение способности кардиомиоцитов аккумулировать кальций вследствие уменьшения содержания фосфолипидов и разрушения мембранного аппарата имеет определяющее значение в развитии явлений сердечной недостаточности различного происхождения. Характеризуя последовательность этих процессов повреждения мембранных структур миокарда, Ф. З. Меерсон [75] рассматривает так называемую липидную триаду, которая складывается из: а) активации ПОЛ, б) активации липаз и фосфолипаз, т. е. ферментов, катализирующих распад липидных молекул, в) детергентного действия возросших концентраций жирных кислот. При этом подчеркивается, что острый инфаркт и связанная с ним боль всегда представляют собой сильный стрессорный фактор, вызывающий значительное усиление биосинтеза и высвобождение катехоламинов, которые становятся источником активирования ПОЛ и тор-

можения антиоксидантных защитных реакций. Все это предшествует нарушениям сократительной функции миокарда и развитию в нем очаговых поражений. Если катехоламины, например норадреналин, ввести в организм извне, то они закономерно приводят к выраженному усилению образования липидных перекисей в сердечной мышце. Небезынтересно отметить попутно, что биологически активные формы кислорода, в частности супероксид-радикал, образуются как при биосинтезе катехоламинов, так и при их окислении, например при превращении адреналина в адренохром. При этом индукция перекисного окисления, вызванная ишемией и инфарктом миокарда, сопровождается торможением ферментов, ответственных за нейтрализацию химически активных форм кислорода и перекисных соединений, в первую очередь супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы. В литературе приводятся данные, свидетельствующие об особенной подверженности ПОЛ тех фосфолипидов мембран, которые содержат много полиненасыщенных жирных кислот, что рассматривается при данных заболеваниях как следствие активности фосфолипаз и других лизосомальных ферментов, а также детергентного действия токсических концентраций некоторых структурно измененных биомолекул. Одним из прямых доказательств такого механизма повреждения клеточных мембран служит резкое снижение в миокарде умерших от инфаркта содержания высоконепредельных жирных кислот, которые особенно быстро подвергаются перекисному окислению. Надо подчеркнуть, что интенсификация ПОЛ при формировании патологических изменений сердечно-сосудистой системы сводится не только к повышению концентрации токсичных продуктов окисления липидов, но и приводит к изменениям состава самих липидов, нарушению вязкости липидного компонента мембран и липидно-белковых взаимоотношений. В свою очередь, это изменяет функциональную активность ряда мембранных ферментов и чувствительность рецепторов к медиаторам [18]. В недавно выполненной работе [124] изучалась динамика содержания продуктов ПОЛ в крови 23 мужчин в возрасте 40—70 лет, у которых был диагностирован крупноочаговый инфаркт миокарда. Оказалось, что в ранние сроки болезни содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах и плазме крови повышалось в острой фазе инфаркта в первые 6 ч заболевания и повторно — к исходу 2—3 суток. Применение дибунола в качестве до-

полнительного лечебного средства способствовало снижению содержания продуктов ПОЛ в крови и давало благоприятный лечебный эффект.

Чтобы лучше понять сущность биохимических сдвигов при ишемии и инфаркте миокарда, необходимо учитывать данные, приведенные недавно Б. Ф. Коровкиным [64], который подчеркнул особую диагностическую значимость повышения активности ряда ферментов в сыворотке крови вследствие выхода их из поврежденных кардиомиоцитов в кровеносное русло из-за развития патологической проницаемости мембран, а также усиленного их синтеза. Автор обращает внимание на примечательный факт: при стенокардии (т. е. при болях в области сердца, вызванных спазмом коронарных сосудов), когда у больного не определяются морфологические изменения в миокарде, активность альдолазы, лактатдегидрогеназы и некоторых других ферментов в сыворотке крови в большинстве случаев остается в пределах нормы. Иными словами, данный биохимический сдвиг должен рассматриваться прежде всего как следствие повреждения мембранного аппарата кардиомиоцитов, приводящего к выходу ферментов в кровь. Понятно, что это может иметь немалое дифференциально-диагностическое значение, особенно тогда, когда данные электрокардиограммы сомнительны.

При ишемии и инфаркте миокарда несомненный интерес представляет изучение динамики АОА различных биологических сред. Известно, что АОА того или иного органа или ткани определяется суммарной концентрацией биоантиоксидантов различной природы и их способностью поддерживать на заданном постоянном уровне неферментативные процессы свободнорадикального окисления. В этой связи весьма показательна работа [36], в которой методом хемилюминесценции у 500 больных изучалась динамика АОА в зависимости от особенностей течения острого инфаркта миокарда и характера электрокардиографических изменений. Прежде всего было показано, что уже в первые часы развития заболевания АОА резко изменяется в зависимости от степени поражения мышцы сердца. Например, при крупноочаговом инфаркте этот показатель возрастал в 1.7 раза, а при мелкоочаговом — в 1.4 раза по сравнению с нормой. Чем моложе были больные, тем рост АОА был большим, т. е. с увеличением возраста нарастание АОА при остром инфаркте миокарда было менее значительным. Любопытно, что при этом АОА повышалась

уже в первые часы болезни, в то время как на электрокардиограмме характерные признаки заболевания еще не отмечались в течение длительного времени, а у 3.5% больных — вообще в течение всего периода развития инфаркта. У больных этой группы диагноз был поставлен на основании клинических признаков, показателя АОА и некоторых биохимических данных. Достаточно высокая информативность АОА была подтверждена и посмертными исследованиями. Так, в 6% случаев (30 больных) на электрокардиограмме был обнаружен мелкоочаговый инфаркт миокарда, в то время как АОА была настолько высока, что свидетельствовала о крупном очаге некроза в сердечной мышце. Именно это и обнаружилось при патологоанатомическом (посмертном) исследовании. В тех же случаях, когда острый инфаркт миокарда осложнялся сердечной недостаточностью с застоем крови в малом круге кровообращения, АОА, наоборот, резко снижалась в течение первой недели заболевания.

Поскольку в нормальных физиологических условиях антиоксидантная система функционирует таким образом, что уровень ее биохимической активности соответствует определенной степени напряженности процессов СРО, то в организме поддерживается динамическое равновесие между этими разнонаправленными компонентами гомеостаза. Отсюда следует, что АОА тканей может истощаться при чрезмерном росте интенсивности окислительных свободнорадикальных реакций, и наоборот. В связи с этим приведенные данные могут показаться противоречащими установленному усилению процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов при остром инфаркте миокарда. Но, как полагают авторы данного исследования, при определенных патологических состояниях могут усиливаться оба названных конкурирующих процесса, и между ними устанавливается равновесие на более высоком стационарном уровне.

Известно, что у пожилых людей снижены резервы биоантиоксидантов. Этим можно объяснить установленное менее интенсивное повышение АОА крови в остром периоде инфаркта у больных пожилого и старческого возрастов. Наконец, если рассматривать АОА крови как адаптационную реакцию в ответ на ишемическое поражение сердца и усиление в связи с этим свободнорадикального неферментативного окисления, тогда быстрое снижение этого показателя у больных с выраженной недостаточностью

кровообращения можно считать критерием ослабления у них приспособительных возможностей. В этой связи показательны также данные [80], полученные в результате обследования 102 больных в острой стадии инфаркта миокарда, у которых было установлено значительное снижение уровня окислительно-восстановительных процессов в сердечной мышце, что ведет к накоплению в ней недоокисленных продуктов обмена веществ. Об этом, в частности, свидетельствовало значительное (примерно на две трети) снижение содержания аскорбиновой кислоты в крови при одновременном повышении уровня ее дегидрированной формы. Чем большей была площадь и глубина поражения мышцы сердца, тем отчетливее был выражен сдвиг. Одновременно в крови 96 % больных отмечалось выраженное повышение уровня фермента церуллоплазмина, принимающего активное участие в окислении аскорбиновой кислоты. Причем чем ниже ее концентрация в плазме крови, тем выше активность церуллоплазмина, уровень которого достигал максимума при крупноочаговом инфаркте миокарда. Наряду с этим у больных почти в 3 раза снижалось содержание в крови витамина В₁ и как следствие наблюдалось значительное повышение уровня пировиноградной кислоты. Кроме того, при остром инфаркте миокарда несколько повышалось содержание в крови глутатиона, что, по-видимому, было следствием его ускоренного синтеза на фоне общего ослабления антиоксидантной защиты организма при этом заболевании. Если вспомнить, что аскорбиновая кислота является важным компонентом антиоксидантной биологической системы, а витамин В — составной частью нескольких дегидрогеназ — ферментов, катализирующих ряд основных обменных процессов, то можно представить и отрицательные последствия установленных нарушений метаболизма.

Известные сведения о патогенетических механизмах ишемического повреждения сердца, а также ряд других экспериментальных и клинических данных, полученных в этой области отечественными и зарубежными исследователями за последние годы, дали основание выделить в формировании инфаркта миокарда следующие четыре стадии [77]. *Первая стадия* — включения основных побудительных факторов, таких как стрессорные ситуации окружающей среды, наследственная предрасположенность к заболеванию, а также связанные с питанием (алиментарные) нарушения обмена липидов и его регуляции,

Все это приводит к развитию атеросклероза коронарных сосудов, стресс-синдрома, изменению свертывающей системы крови и явлениям тромбоза. Возникающая таким путем ишемия миокарда сопровождается выключением дыхательной цепи митохондрий, усиливает или вновь включает стресс-синдром и порождает значительное возбуждение адренергической регуляции и избыток катехоламинов в организме. На *второй стадии* формируется дефицит богатых энергией фосфорных соединений (АТФ, АДФ, креатинфосфат) за счет ослабления синтеза и вследствие их выхода во внеклеточное пространство из-за увеличения проницаемости миокардиальной мембраны, торможение цикла трикарбоновых кислот и гликолиза, а также накопление жирных кислот и нарушение ионного равновесия в кардиомиоцитах. Эти сдвиги вызывают *третью стадию* процесса, состоящую в повреждении структуры липидного бислоя мембран и представляющую собою то, что было обозначено термином «липидная триада» и что является следствием выхода многих ферментов во внеклеточное пространство. И, наконец, прогрессирование перечисленных нарушений при длительной ишемии миокарда предопределяет развитие *четвертой стадии* процесса — необратимого повреждения всех основных органелл кардиомиоцитов и гибели этих клеток.

В работе [78] было рассмотрено происхождение нарушений ритма сокращения сердечной мышцы с позиций окисления липидов в клетках проводящей системы. Объектом исследования являлось правое предсердие крыс, в котором локализован так называемый синоаурикулярный узел — скопление клеток, близких по строению к нервным, которые функционируют в качестве автоматического регулятора (водителя) сердечного ритма. Именно в этом узле генерируются (зарождаются) импульсы, которые становятся источником возбуждения и последующего сокращения кардиомиоцитов. В омывающую предсердия жидкость добавляли перекись водорода, которая вызывала вначале умеренное учащение сердечного ритма, сменявшееся прогрессирующим его урежением вплоть до остановки предсердий. При этом урежение сокращений предсердий сопровождалось нарушением ритма с увеличением длительности сердечных циклов в 2 раза и более. Любопытно, что если животные предварительно переносили стрессорное воздействие, то у них сразу после введения H_2O_2 развивалась аритмия на фоне урежения сокращений предсердий, а за-

тем значительно быстрее наступала их остановка. Иными словами, стресс потенцировал аритмогенный эффект перекиси водорода. Авторы показали, что H_2O_2 , запуская перекисное окисление липидов в биомембранах проводящей системы сердца, приводит к резкому увеличению ультрафиолетовой хемилюминесценции миокарда, усиливает выход малонового диальдегида и клеточных ферментов в омывающую предсердия жидкость. Но, пожалуй, самым существенным аргументом в пользу такого механизма действия H_2O_2 является установленное в данной работе ограничение или предупреждение нарушений сократительной функции предсердий с помощью антиоксиданта — препарата из группы оксипиридинов (ОП-6).

Антиоксидантная защита сердца

К настоящему времени накоплен большой экспериментальный и клинический материал, убедительно показывающий, что противooksидлительные вещества, стабилизирующие биомембраны и тормозящие в них процессы свободнорадикального перекисного окисления, являются действенными средствами предупреждения и лечения нарушений кровообращения в сердце и ослабления доставки к нему кислорода. Так, в качестве кардиопротектора в нашей стране был впервые использован антиоксидант ионол [76]. Животных подвергали эмоционально-болевого стрессу по описанной выше методике, позволяющей вызывать у крыс так называемый невроз тревоги. Прежде всего было показано, что стрессорное воздействие снижает резистентность сердца к кислородной недостаточности; более того, оно потенцирует гипоксическое повреждение миокарда. Предварительное введение ионола животным существенно снижало накопление гидроперекисей липидов и почти полностью предотвращало накопление оснований Шиффа в кардиомиоцитах. Не менее ценно и то, что этот препарат снижал освобождение креатинфосфокиназы в 2—3 раза по сравнению с контролем, защищал сердце от гипоксического повреждения и, кроме того, резко стимулировал восстановление сократительной функции в послегипоксическом периоде. Пониманию сущности такого защитного эффекта ионола могут служить опыты, в которых изучалась сократительная активность изолированных кардиомиоцитов, подвергавшихся воздействию высоких кон-

центраций норадреналина. Авторы этого весьма тонкого исследования [95] сумели показать, что предварительная блокада ПОЛ ионолом предупреждает токсическое действие данного катехоламина на клетки сердечной мышцы, выражавшееся в ослаблении их сократительной активности. Более того, на фоне мембранопротекторного влияния антиоксиданта норадреналин, в обычных условиях действующий как стимулятор β -адренорецепторов, проявлял свойственную ему способность увеличивать силу сокращения кардиомиоцитов.

В лаборатории Ф. З. Меерсона было показано, что под влиянием эмоционально-болевого стресса происходят глубокие нарушения сократительной функции гладкой мышцы воротной вены и восприимчивости ее к катехоламинам. Это может играть важную роль в нарушении возврата крови из венозного русла к сердцу и возникновении резких расстройств кровообращения. Поскольку стресс сопутствует острому инфаркту миокарда, то логично предположить, что при развитии последнего сходным образом нарушается работа воротной вены, вследствие чего приток венозной крови к сердцу может резко ослабляться, а это способствует возникновению кардиогенного шока. Если крысам предварительно вводить ионол и ингибитор липаз никотинамид, то тем самым можно существенно ослабить нарушения кровообращения. При этом, по-видимому, подтверждается, что патологические изменения сократительной функции гладкомышечных клеток воротной вены обуславливаются повреждением липидного бислоя их мембранных структур, возникающим из-за активации ПОЛ и ферментов, катализирующих биотрансформацию липидов.

Важное значение имеют работы, в которых ставилась цель изучить антиоксидантные свойства некоторых распространенных в кардиологии лекарств при коронарной недостаточности и инфаркте. Такие исследования, например, были проведены на кафедрах фармакологии и патологической физиологии 1-го Московского медицинского института им. И. М. Сеченова под руководством А. Н. Кудрина. Так, было установлено, что известные кардиотонические препараты строфантин и миофедрин помимо своих основных свойств способны также тормозить ПОЛ и, стабилизируя мембраны кардиомиоцитов, снижать степень поражения сердечной мышцы при экспериментальном инфаркте. Показано также ингибирующее действие на про-

цесс липопероксидации широко применяемого в лечебной практике β -адреноблокатора обзидана (синонимы: индерал, анаприлин). Этот препарат отчетливо проявлял свойства мембранопротектора, он подавлял у животных реакции ПОЛ в зонах ишемии и формирующегося инфаркта миокарда, что подтверждалось соответствующими изменениями показателей хемилюминесценции липидов, концентрации малонового диальдегида и оснований Шиффа.

Еще более 30 лет назад было показано, что витамин Е значительно снижает смертность среди больных инфарктом миокарда, превосходя по своим терапевтическим свойствам многие применявшиеся в то время препараты. В последующем в большом числе экспериментальных и клинических исследований витамин Е и его комбинации с другими антиоксидантами применялись как кардиопротекторы. Например, в опытах на крысах [65], у которых посредством пережатия коронарных артерий вызывался инфаркт миокарда, было установлено, что введение витамина Е, его комбинации с селенитом натрия, а также одного селенита натрия предотвращает появление выраженных электрокардиографических изменений в миокарде и уменьшает размеры поражения сердечной мышцы животных. Хотя молекулярный механизм такого защитного эффекта еще до конца не выяснен, можно полагать, что он связан со способностью антиоксидантов стабилизировать мембраны за счет взаимодействия с сульфидсодержащими белками и полиненасыщенными фосфолипидами, а также с их антирадикальной активностью. Этим можно также объяснить экспериментально установленное снижение выхода креатинфосфокиназы и лактатдегидрогеназы из ишемизированного миокарда, если через него пропускать раствор, содержащий α -токоферол. Особенно важно торможение данного процесса при реоксигенации миокарда в послеишемический период на фоне активизирования синдрома пероксидации.

В другом исследовании этого направления [105] установлено, что в условиях прекращения доступа кислорода в митохондриях кардиомиоцитов крыс происходит резкое накопление свободных жирных кислот вследствие активации фермента фосфолипазы. Если же на эти клеточные органеллы предварительно подействовать ацетатом токоферола или селенитом натрия, то наблюдается торможение гидролиза фосфолипидов и содержание жирных кислот

остается на исходном (контрольном) уровне в течение всего периода ишемии. Комбинированное воздействие антиоксидантов давало подобный эффект даже, если дозы каждого из них были в 10—100 раз меньшими. Оценивая значение полученных результатов, авторы этой работы обращают внимание на повреждающее влияние свободных жирных кислот на биоструктуры, которое проявляется в ингибировании митохондриальных ферментов, угнетении окислительного фосфорилирования и увеличении проницаемости мембран митохондрий для ряда катионов (в том числе Ca^{2+}). Эти и многие другие экспериментальные и клинические данные указывают на реальную возможность благотворно влиять на течение ишемического заболевания сердца посредством применения природных и синтетических антиоксидантов.

Глава 6

РАДИАЦИЯ, СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И АНТИОКСИДАНТЫ

Радиация и процессы перекисного окисления липидов

Достоверно установлено, что степень выраженности влияния ионизирующих излучений на организм зависит от парциального давления кислорода в облучаемой биологической среде. Более того, концентрация кислорода в тканях является решающим фактором реализации радиационного поражения человека и животных. В этой связи в радиобиологии рассматривается явление, получившее название кислородный эффект. Под ним обычно понимают усиление действия излучений при повышении концентрации кислорода в том или ином биологическом объекте, если сравнивать этот результат с облучением в бескислородных условиях. И наоборот, облучение живых существ при пониженном содержании кислорода или при его отсутствии (анаэробные условия) дает менее выраженное повреждение организма, чем при нормальном давлении кислорода.

Как известно, под влиянием ионизирующих излучений в биологических тканях образуется большое число продуктов радиолиза воды, в том числе свободных радикалов, обладающих отчетливо выраженными окислительными и восстановительными свойствами:

H^+ , $H^\bullet$, OH^- , $OH^\bullet$, HO_2^- , H_2O_2 , O_2^- , $O_2^{\bullet-}$, H_2O^+ , H_2O^- и др.

Несмотря на то что они распадаются в течение тысячных долей секунды, их высокая химическая активность является, вероятно, одной из основных причин повреждающего действия ионизирующих излучений на нуклеиновые кислоты и другие биоструктуры.

Тот факт, что SH-группы так легко окисляются, имеет чрезвычайно большое радиобиологическое значение, так как в организме функционирует очень много веществ, включающих свободные сульфгидрильные группы, в том числе около 100 ферментов. С ними связано проведение нервного импульса, тканевое дыхание, мышечное сокращение, проницаемость клеточных мембран, обмен и трансформация биомакромолекул, чужеродных веществ. Вот почему ионизирующая радиация вызывает сложную цепь патологических сдвигов в организме.

Более 30 лет назад Б. Н. Тарусовым [115] впервые была обоснована теория ведущей роли в лучевом поражении реакций окисления липидов. Оказалось, что эти реакции являются наиболее интенсивными среди многих радиационно-химических реакций окисления и что под их влиянием нарушается структура мембранных липидов. В последующем было показано, что в ряде органов и тканей после облучения накапливаются продукты свободнорадикального окисления (СРО) — перекиси, альдегиды, кетоны, эпоксиды, которые играют роль радиотоксинов. Кроме того, в облученном организме обнаружено отчетливое усиление люминесценции липидов, а также способность продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) вызывать непосредственное первичное действие облучения (*радиомодифицирующий эффект*) и резко повышать чувствительность организма к радиации (*радиосенсибилизирующий эффект*). Иными словами, сами по себе продукты ПОЛ способны вызывать лучевой эффект и создавать благоприятный фон для его проявления. Так, предварительное введение перекисных соедине-

ний животным приводит к резкому усилению действия радиации; если же перекисные препараты ввести после облучения, то это повлечет за собой суммирование эффектов двух данных воздействий [35].

В 1957 г. Н. М. Эмануэль и его сотрудники впервые сделали предположение, что образующиеся в живом организме под воздействием проникающей радиации свободные радикалы могут вызывать не свойственные ему цепные реакции, нарушать метаболические процессы и повреждать различные биоструктуры. Данная гипотеза подтвердилась, и стало ясно, что свободнорадикальные состояния формируются не только в липидной фракции клетки, но и в других жизненно важных макромолекулах — белках, нуклеиновых кислотах, полисахаридах — при их взаимодействии с кислородом и молекулами воды. Так, в опытах на крысах при их облучении в дозе 1300 рад установлено, что в результате действия ионизирующей радиации в различных классах фосфолипидов происходит 3—10-кратное накопление продуктов ПОЛ. При этом максимальное количество гидроперекисей было обнаружено во фракции фосфатидилэтаноламина, а само развитие реакции ПОЛ в тканях облученных летальными дозами животных происходило на фоне резко сниженных величин антиокислительной активности липидов. Поэтому при достаточно интенсивном лучевом воздействии в организме возникают различные структурно измененные соединения, которые, превращаясь в свободные радикалы, способны реагировать с валентно-насыщенными (не измененными) молекулами и тем самым продолжать течение процессов СРО. Правда, по сравнению с общим числом молекул в клетке их ничтожно мало, однако, как показывают биофизические исследования, собственно радиационный эффект определяет именно эти поврежденные молекулы, и, возможно, даже только их небольшая часть.

В этой связи представляет интерес предположение [126], что при облучении белковых и других макромолекул в них могут возникать долгоживущие скрытые повреждения, которые в дальнейшем могут проявить себя под влиянием различных химических и физических факторов. Дело в том, что процессы радиолиза сложных молекул отличаются от физико-химических изменений простых молекул, например H_2O , тем, что энергия ионизирующей радиации, поглощенная такими молекулами,

способна передаваться по отдельным их звеньям (частям) и локализоваться в их «слабых» местах. Тем самым образуются скрытые повреждения электронной структуры макромолекул, и эти нарушения могут длительно сохраняться. Например, в белковых молекулах изменения такого рода приводят к образованию фрагментов с неспаренными электронами (т. е. свободных радикалов) в тех местах, где имеются дисульфидные связи.

Поскольку в реакциях радиолиза, свободнорадикальных процессах и в образовании перекисных соединений обязательно присутствует кислород, то совершенно естественно, что при кислородной недостаточности (гипоксии) поражающее действие ионизирующих излучений ослабляется. Однако защитный эффект недостатка кислорода в тканях проявляется только в момент облучения, и если вызвать гипоксию после лучевого воздействия, то она не только не облегчает течение радиационных поражений, но оказывается даже вредной для организма, может ослаблять восстановительные процессы и способствовать развитию осложнений. К тому же надо учитывать, что чем выше доза облучения, тем в меньшей степени проявляется профилактическое действие гипоксии. В этой связи следует учитывать результаты работы ученых из Каролинского института (г. Стокгольм) [96], которые показали, что кислород играет двойную роль: с одной стороны, он увеличивает чувствительность клеток к радиации и усиливает их лучевое поражение, а с другой — защищает клетки, поставляя энергию, необходимую для процесса восстановления. Причем при больших дозах облучения сенсibiliзирующее действие кислорода значительно превосходило эффект его защитного влияния, а при малых дозах наблюдалось обратное соотношение. Следовательно, радиобиологическое значение кислорода неоднозначное и должно оцениваться с учетом интенсивности лучевого воздействия.

Радиопротекторы

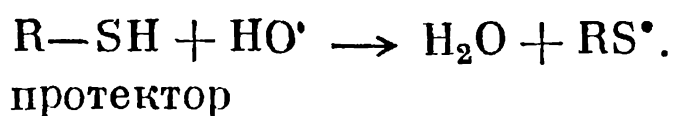
Это название получили вещества, обладающие противолучевым (радиозащитным) действием при их введении человеку или животному до облучения. Присутствуя

в организме во время лучевого воздействия, они оказывают влияние на ранние физико-химические превращения в цепи радиобиологических явлений — от восприятия биомолекулами энергии излучения до развития функциональных или структурных повреждений. Следовательно, они проявляют себя как профилактические агенты, создающие определенную степень устойчивости организма к радиации, и тем самым существенно ослабляют степень тяжести лучевого поражения и облегчают его течение. Интерес исследователей к изысканию новых эффективных средств медикаментозной защиты человека от повреждающего действия радиации постоянно возрастает прежде всего в связи с развитием атомной промышленности, освоением космоса, расширяющимся использованием источников ионизирующих излучений в различных отраслях народного хозяйства, в медицинской практике и с научными целями. Так, радиопротекторы способны регулировать резистентность организма к облучению, когда оно проводится с лечебной целью, например для воздействия на злокачественную опухоль. В этом случае они могут ослабить нежелательное влияние радиации на ряд органов и систем.

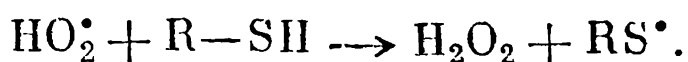
Разработка способов химической защиты от поражающего действия ионизирующей радиации исторически связана с изучением роли свободных радикалов и перекисных водных соединений, возникающих в ходе развития первичных лучевых процессов. После опубликования известных работ бельгийских радиобиологов Бака, Эрве, Александера (начало 50-х годов) испытания радиопротекторов начали вестись широким фронтом как у нас, так и за рубежом. В частности, открытие этими учеными высокого защитного эффекта аминотиолов — цистеамина и цистамина — явилось основанием к дальнейшему систематическому изысканию новых противолучевых препаратов. Именно эти сульфгидрильные вещества, а также аминокэтилизиотурионий (синоним — амитурион), обладающие выраженным антиоксидантным действием, и в настоящее время являются наиболее эффективными радиопротекторами.

Молекулярный механизм радиозащитного противолучевого действия аминотиолов основан прежде всего на их способности реагировать со свободными радикалами — продуктами радиолиза воды, что приводит к утрате последними химической активности. Например.

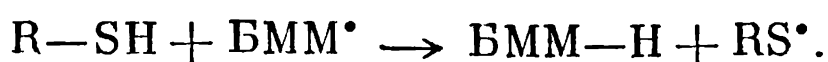
если свободным радикалом является гидроксил, то реакция идет по схеме:



Сходным образом протектор может инактивировать гидропероксид, с которым связывается наибольшая степень повреждения биоструктур:

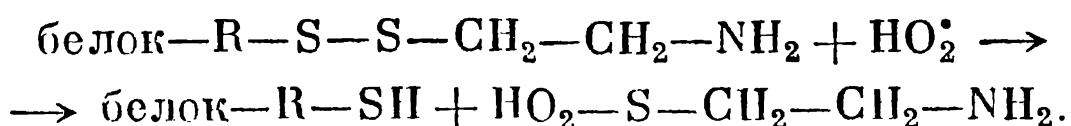


При этом возможно взаимодействие тиолового протектора и с активированными (структурно измененными) под влиянием радиации биомакромолекулами (БММ):



Надо особо отметить значение тиоловых радиопротекторов как средств, уменьшающих образование перекисей в липидных биоструктурах и снижающих интенсивность свободнорадикальных реакций. Однако гипотеза о конкурентной инактивации свободных радикалов противолучевыми веществами может быть принята в основном для объяснения механизмов защиты в условиях преобладания концентраций противолучевых веществ над концентрацией свободных радикалов.

Второй механизм противоокислительного защитного действия аминотиоловых радиопротекторов состоит в их взаимодействии с белками, включающими свободные сульфгидрильные группы. С такой белковой молекулой радиопротектор образует смешанный дисульфид. Здесь важно отметить, что дисульфидная связь обладает свойством защищать биомолекулы от прямого действия ионизирующих излучений посредством перехвата квантов лучистой энергии, расходуемой на разрыв связи —S—S— . Одновременно восстанавливается атом серы биомолекулы (т. е. регенерируется SH-группа) и окисляется молекула радиопротектора. Кроме того, смешанные дисульфиды могут связывать свободные радикалы, возникающие под влиянием ионизирующих излучений. Так, например, при взаимодействии с гидропероксидом такая реакция идет по схеме:



Надо также отметить свойство серосодержащих радиопротекторов снижать (за счет поглощения γ -квантов) интенсивность фотохимических реакций повреждения ряда биоструктур, прежде всего нуклеиновых кислот. И, конечно, следует иметь в виду еще одну полезную роль антиоксидантных защитных веществ — способность корректировать нарушенный радиацией клеточный метаболизм за счет взаимодействия с ферментами, структурными белками, нуклеопротеидами, липидами биомембран. Посредством включения в биохимические реакции своих активных функциональных групп радиопротектор увеличивает радиорезистентность названных макромолекул. Кроме того, теперь есть основания рассматривать защитный эффект аминотиолов как результат усиления ими образования и накопления эндогенных сульфгидрильных соединений.

Среди близких по строению и сущности действия к описанным серосодержащим защитным веществам заметное место принадлежит производным тиофосфорной кислоты [21]. В организме эти вещества легко гидролизуются с образованием свободной SH-группы по месту химической связи между серой и фосфором. Так, цистафос ($\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SPO}_3\text{HNa}$), который прошел комплексное испытание на животных, был испытан на добровольцах и оказался эффективным при облучении γ -лучами и нейтронами. Интересно отметить, что наличие углеводородного «хвоста» в молекулах таких веществ придает им выраженные липотропные свойства и ускоряет их ферментативный гидролиз с образованием свободных SH-групп.

Второй группой радиозащитных препаратов являются некоторые биологически активные амины, или, как их чаще называют, биогенные амины. Среди них наиболее изучены индолилалкиламины — серотонин, или 5-окситриптамиин, и его метиловый эфир — 5-метокситриптамиин, известный также под названием мексамина. По своему противолучевому действию эти вещества не уступают аминотиолам. Долгое время, с начала 50-х годов, т. е. со времени первых экспериментов, доказавших противолучевую активность указанных веществ, считалось, что единственным ее объяснением является снижение скорости циркуляции крови и уменьшение напряжения кислорода в радиочувствительных органах и тканях как следствие сосудосуживающего действия аминов. О таком

механизме говорит и то, что при повышении давления кислорода противолучевая активность аминов снижается. Имеются доказательства и прямой способности биогенных аминов вызывать у животных падение содержания кислорода в тканях, которое согласуется со степенью их противолучевого действия. Однако в последние 10—15 лет стали накапливаться факты, которые не только не подтвердили ведущее значение сосудосуживающей способности биогенных аминов в создании радиорезистентности, но и противоречили ему. Так, например, была показана способность аминов защищать от ионизирующей радиации одиночные клетки и даже отдельные биомолекулы. Разумеется, эти данные невозможно объяснить, основываясь на теории гипоксического сосудосуживающего (т. е. системного) действия протекторов. Все более становилась ясной способность этих веществ вмешиваться в течение обменных процессов на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. В связи с этим особого рассмотрения заслуживает влияние серотонина, гистамина и других биогенных аминов на процессы ПОЛ. Вначале в модельных опытах на различных биологических объектах, а затем на уровне целого организма было показано, что серотонин отчетливо уменьшает скорость окисления липидов в мембранах, в частности подавляет в фосфолипидах лизосом образование гидроперекисей, которые, как мы уже отмечали, являются радиосенсибилизирующими агентами. Так, если крысам ввести параклорфенилаланин — вещество, снижающее синтез эндогенного серотонина, а следовательно и содержание его в тканях, то это приводит к значительному возрастанию уровня продуктов ПОЛ в организме животных. Уже есть прямые доказательства того, что биогенные амины, в первую очередь серотонин, тормозя ПОЛ, одновременно подавляют образование супероксидных анион-радикалов кислорода. Как полагают Е. Н. Гончаренко и Ю. Б. Кудряшов [35], одним из механизмов ингибирования ПОЛ серотонином и другим биогенным амином — дофамином — может быть перехват супероксидного анион-радикала. Другие известные вещества этой группы — катехоламины (адреналин и норадреналин) — также способны реагировать с активными формами кислорода, образующимися в клетке под влиянием радиации. К сказанному надо добавить, что биогенные амины могут тормозить каталитические процессы липопероксидации в биомембранах. Поэтому анти-

оксидантные свойства этих веществ должны рассматриваться как один из определяющих факторов их радиозащитного действия.

Дальнейшие исследования биогенных аминов выявили их взаимосвязь с сульфгидрильными соединениями. С одной стороны, обнаружилось, что последние активируют синтез и мобилизацию аминов, а с другой — некоторые амины, в частности катехоламины, увеличивают в тканях содержание тиолов и способствуют ферментативному восстановлению дисульфидных соединений, что приводит к возрастанию уровня активных SH-групп в организме.

Отдельного рассмотрения заслуживают радиопротекторы, способные избирательно реагировать со свободными радикалами и заменять активные радикалы на неактивные. Первое экспериментальное доказательство радиозащитного действия ингибиторов радикальных процессов было получено академиком Н. М. Эмануэлем, Е. Б. Бурлаковой и их сотрудниками еще в 1957 г. В последующем в лабораториях этих ученых испытывались акцепторы свободных радикалов различного химического строения (фенолы и их амино- и нитрилпроизводные, а также замещенные оксипиридины). И здесь была выявлена качественно новая для радиопротекторов закономерность — названные препараты обладают противолучевым действием не только до воздействия летальных доз радиации, но и после него, увеличивая как процент выживших животных, так и среднее время их жизни после облучения [17]. Причем введение в организм испытывавшихся веществ после облучения было иногда даже более эффективным, чем до облучения. Далее было установлено, что с увеличением дозы антиоксидантов их радиозащитное действие вначале возрастает, а затем падает, и если продолжать наращивать дозу вводимого вещества, то наступает ухудшение состояния подопытных животных и среднее время их жизни сокращается. Иными словами, в больших дозах ингибиторы свободных радикалов проявляют радиосенсибилизирующее действие. Тут имеет значение мощность лучевого воздействия — чем она выше, тем больше диапазон эффективно действующих концентраций ингибиторов. Немаловажную роль играет и время введения препаратов: если их вводить животным сразу после облучения или в пределах одного часа после него, то положительного эффекта, как правило, не наблюдается и даже ухудшается состояние животных.

Но если момент введения после облучения изменить от 2 до 4 ч, то уже отчетливо проявляется защитное действие препаратов, достигая максимума при введении через 8—10 ч после облучения. Напрашивается предположение, что ингибиторы радикальных реакций, по-видимому, каким-то образом задерживают развитие скрытых лучевых повреждений в клетках или же стимулируют восстановительные процессы. В то же время надо иметь в виду, что синтетические ингибиторы, подменяя своим действием природные антиоксиданты, разрушенные во время облучения, могут тормозить свободнорадикальные окислительные реакции в биомолекулах, прежде всего в липидах, и тем самым блокировать системы усиления радиационного поражения. И, конечно, в этой связи нельзя не вспомнить теоретические положения Б. Н. Тарусова [115] о биологических основах образования липидных радиотоксинов, с которыми связываются первичные лучевые реакции. Таким образом, существует потенциальная возможность использования в качестве радиопротекторов таких веществ, которые уменьшают концентрацию активных радикалов, возникающих при облучении. Заслуживают упоминания и другие радиопротекторы антиоксидантного типа — ряд фенольных соединений, прежде всего вещества из группы хинонов. В частности, соли и эфиры галловой кислоты, например галлат натрия и пропилгаллат, проявляют заметное противолучевое действие [9]. Такой их эффект связывается с образованием семихинонов — нестойких и химически активных продуктов окисления фенолов.

Таким образом, арсенал радиозащитных средств достаточно велик. Однако поиски эффективных и нетоксичных радиопротекторов (в том числе и среди антиоксидантов) продолжаются.

Глава 7

ОНКОГЕНЕЗ, СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И АНТИОКСИДАНТЫ

Как известно, опухоль — это избыточное, некоординированное с организмом болезненное разрастание тканей, продолжающееся после прекращения действия вызвавших

се причин. В отличие от доброкачественной злокачественная опухоль характеризуется способностью проникать в окружающие ткани и разрушать их, а также давать метастазы, т. е. распространяться по организму током крови и лимфы. Опухолевые клетки рассматриваются как генетически измененные, так как они передают приобретенные свойства в бесконечном ряду поколений. В них изменено течение обменных процессов. Так, злокачественно перерожденные ткани отличаются более интенсивными реакциями анаэробного гликолиза, т. е. распадом глюкозы без участия кислорода. На фоне ускоренного синтеза белков и нуклеиновых кислот значительно снижено образование липидов (жирных кислот) и в различных органоидах опухолевых клеток постепенно теряется специфичность фосфолипидов, т. е. выравнивается их состав [125].

Известно, что способность вызывать злокачественное перерождение тканей человека и животных, т. е. канцерогенной (онкогенной, бластомогенной) активностью, обладают ряд химических соединений, физические факторы, в первую очередь понижающее и ультрафиолетовое излучения. Существуют и биологические возбудители злокачественного роста — фильтрующие вирусы. Что касается химического канцерогенеза, то теперь уже накоплен большой фактический материал, раскрывающий прямую зависимость злокачественного роста клеток от воздействия тех или иных химических агентов. Рассмотрим этот вопрос подробнее.

Злокачественные новообразования химического происхождения известны очень давно и наблюдались при длительном контакте людей с печной сажей, каменноугольной смолой, парафином, минеральными маслами, анилиновыми красителями, дымами различного происхождения. Например, высокая заболеваемость раком легких связывается с присутствием канцерогенных углеводородов в табачном дыме, а также в дыме промышленных предприятий и выхлопных газах двигателей внутреннего сгорания, загрязняющих атмосферный воздух.

Важнейшей группой канцерогенных веществ являются некоторые полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), с которыми связывают бластомогенные свойства нефти, продуктов ее переработки, а также различных смол, в том числе табачной, бурого и древесного угля, продуктов сжигания и гидролиза органического

сырья. В числе таких веществ — 3,4-бенз(а)пирен (БП), 1,2,5,6-дибензантрацен (ДБА), 3-метилхолантрен (МХ). Сильными канцерогенными свойствами обладают также ароматические аминокислоты (ортоаминоазотолуол, бензидин, 2-нафтиламин, аминодифенил). Под их влиянием может возникнуть рак печени и мочевого пузыря, в частности у работающих в анилинокрасочной промышленности. К канцерогенам относят большую группу алкилирующих соединений: нитрозамины, производные акридина, флуорены, этиленимины, эпоксиды. Есть доказательства канцерогенного действия ряда металлов, их оксидов, солей. Так, профессиональный рак органов дыхания вызывают соединения хрома, кадмия, кобальта.

Химические канцерогены подчас проявляют избирательное действие на те или иные органы. Можно думать, что это в значительной степени зависит от уровня их накопления в определенном органе (ткани), характера превращения в организме, путей выделения. Так, многие ПАУ вызывают развитие рака кожи и органов дыхания, т. е. в местах их первичной аппликации. В то же время другие вещества сами по себе не вызывают образование опухолей, а становятся опасными только после биотрансформации. К примеру, ароматические аминокислоты превращаются в печени в ортогидроксилированные метаболиты, которые, выделяясь с мочой и, вероятно, концентрируясь в ней, вызывают не только опухоли печени, но и мочевого пузыря. Важно учитывать также возможность синтеза в организме канцерогенных веществ из неканцерогенных. Это, в частности, может произойти при превращениях нитратов в нитриты и затем в нитрозосоединения.¹ Небезынтересно отметить некоторое сходство структуры канцерогенных ПАУ с гормональными веществами стероидного ряда, что может свидетельствовать о возможности эндогенного возникновения в организме соединений, обладающих онкогенной активностью. Их существование было, например, доказано развитием опухоли у мышей после введения им экстрактов печени онкологических больных. Подобным действием могут обладать также производные аминокислоты триптофана

¹ Об этом говорит также большое значение, которое придает данной проблеме Всемирная организация здравоохранения (см. кн.: [85]).

(3-оксикинурины и др.), которые обнаруживаются в крови больных некоторыми формами рака.

Очень характерен для проявления действия канцерогенного вещества латентный (скрытый) период, длительность которого, по-видимому, определяется как суммарной дозой вещества, фиксированной клетками, так и интегральным эффектом его влияния на определенные биоструктуры. Считается, что воздействие даже самых минимальных количеств канцерогена не проходит для организма бесследно, но чем выше его исходная концентрация при продолжающемся поступлении в органы и ткани, тем короче скрытый период. Вообще он весьма длителен и для некоторых видов злокачественных заболеваний составляет многие годы. К примеру, смоляной и дегтярный рак кожи может возникнуть через 2.5—30 лет, а анилиновый рак мочевого пузыря — через 4—48 лет.

При выяснении первичных механизмов онкогенеза возникает вопрос: а не существует ли какое-то общее свойство химических, физических и биологических опухолеродных агентов, которое приводит к одному и тому же конечному результату — развитию злокачественных новообразований? Многие работы последних 10—15 лет у нас и за рубежом показывают, что есть большие основания таким свойством считать способность канцерогенных факторов индуцировать появление свободных радикалов, изменяющих структуру и функцию жизненно важных компонентов клеток, прежде всего их генетический аппарат. Опираясь на результаты собственных и многих других экспериментальных исследований, Ю. П. Козлов прямо указывает [63] на то, что в настоящее время канцерогенные агенты должны рассматриваться как потенциальные источники свободных радикалов. С помощью методов ЭПР и привитой сополимеризации у многих из названных выше канцерогенов была обнаружена способность образовывать в организме свободные радикалы. Это, в частности, вытекает из опытов, в которых на кожу крыс наносили БП и МХ. В то же время неканцерогенные аналоги этих веществ — пирен и антрацен — подобной способностью не обладали. С образованием свободных радикалов связываются также канцерогенные свойства этилениминов, гидроксиламинов, эпоксидов. При этом резко повышается их химическая активность и индуцируются реакции, которые приводят

к сдвигам нормального обмена самих свободных радикалов.

25 лет назад академик Н. М. Эмануэль выдвинул гипотезу, согласно которой свободные радикалы играют важную роль не только в процессах злокачественного перерождения клеток, но и в дальнейшем развитии и росте опухоли. В последующие годы было поставлено много опытов на животных, в которых изучалась кинетика свободнорадикальных процессов при росте перевиваемых опухолей и которые подтвердили данное предположение. При этом было обращено внимание на наличие определенной фазовой динамики концентрации свободных радикалов по мере течения опухолевого процесса. Если отвлечься от таких особенностей злокачественного новообразования, как его тип и происхождение, то в период интенсивного опухолевого роста чаще всего отмечаются сдвиги свободнорадикального окисления (СРО) в первую очередь в биомембранах, в которых концентрация свободных радикалов и ряда продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) периодически изменяется. Например, при развитии лейкоза (злокачественного заболевания крови) в селезенке, печени, почках и других органах экспериментальных животных увеличение свободных радикалов достигает наивысшего уровня на третьи-четвертые сутки, т. е. тогда, когда еще не обнаруживаются такие основные проявления этого заболевания, как увеличение размеров селезенки и резкое возрастание количества лейкоцитов в крови. Когда же эти признаки выраженного лейкоза имеют место, то в патологически измененных органах наблюдается падение концентрации свободных радикалов, а к моменту гибели животных — снижение ниже нормы. Несомненную научную ценность представляют в этой связи результаты прямых измерений концентрации перекисей липидов в раковых клетках. Оказалось, что содержание перекисей в опухолях (в основном во фракции фосфолипидов) понижено по сравнению с нормальными тканями. В то же время по мере развития опухоли концентрация перекисей липидов и холестерина в тканях животных увеличивалась. По этому поводу Ю. А. Владимиров и А. И. Арчаков пишут, что данное явление «может быть, в принципе, обусловлено несколькими причинами: изменением концентрации активаторов перекисного окисления, например ионов негемного (свободного) железа, изменением степени пена-

сыщенности липидов, или, наконец, изменением содержания антиоксидантов... Решающее слово остается все же, по-видимому, за антиоксидантами» ([23], с. 180—181).

Весьма демонстративны в этом плане изменения концентрации свободных радикалов в тканях, претерпевающих злокачественное перерождение под влиянием химических канцерогенов с последующим ростом образовавшейся опухоли, ее распадом и метастазированием. Методом ЭПР этот вопрос был изучен сотрудниками Н. М. Эмануэля применительно к ряду вышеназванных веществ — БП, ДБА, диэтилнитрозамину и др. Вначале, на так называемой цитотоксической стадии действия канцерогена (первые 10—15 суток), в злокачественно перерождающихся тканях концентрация свободных радикалов снижается (до 45% от исходной величины). Но этот сдвиг не является специфическим, так как отмечается и при действии других веществ, не обладающих канцерогенной активностью. На второй стадии (последующие 2 недели) изменения концентрации свободных радикалов носят противоположный характер — их количество существенно возрастает (до 50% на 4-й неделе). Затем, через 40—50 суток, после некоторого снижения до нормы начинается второй, длительный подъем концентрации свободных радикалов (до 75% от исходной величины на 90—150-е сутки от момента воздействия канцерогена). Когда клетки уже переродились в раковые (через 150—180 суток), то после непродолжительного превышения концентрации над нормой начинается стадия резкого снижения содержания свободных радикалов — в 2—3 раза от исходной величины. Очень важно отметить, что такая динамика свободных радикалов с небольшими количественными различиями установлена при изучении многих других злокачественных новообразований. Она не зависит от природы канцерогенного фактора, вида, возраста и пола животных, а также от типа поврежденных клеток. И чем раньше возникло изменение концентрации свободных радикалов, тем, как правило, быстрее развивалась опухоль. Следовательно, эти закономерности имеют общепатологическое значение и присущи опухолевому процессу в целом. Из них вытекает важный практический вывод: в основу ранней диагностики раковых заболеваний могут быть положены физико-химические сдвиги в тканях. Попятно, что их обна-

ружение биофизическими методами имеет значительное преимущество в сроках перед общепринятыми морфологическими, цитохимическими и биохимическими способами обнаружения признаков злокачественного роста [6].

Поскольку при развитии злокачественного новообразования происходят сдвиги в свободнорадикальных процессах окисления, то и содержание в тканях организма-опухоленосителя природных антиоксидантов не может не изменяться. Известно, что выработка и расходование антиоксидантов в нормальных условиях жизнедеятельности происходят сбалансированно — их концентрация уменьшается при увеличении концентрации окисляющих молекул, и наоборот. При опухолевых процессах видоизменяется установившееся соотношение между уровнем свободных радикалов и количеством естественных противоокислительных веществ — в первую очередь SH-соединений, токоферола, некоторых гормонов, коферментов. Мы уже отмечали, что в раковых клетках снижена интенсивность окислительных процессов. Отсюда становится понятным и установленный факт резкого снижения хемилюминесценции опухолевых тканей. Значит, в них существуют какие-то более мощные, чем у нормальных клеток, противоокислительные системы. Молекулярно-биохимическая оценка этого явления впервые была предпринята в лаборатории Б. Н. Тарусова [115] более 20 лет назад при изучении суммарной антиокислительной активности (АОА) липидов клеток саркомы у крыс. Было показано, что в названной опухоли наблюдается повышенная концентрация и активность антиоксидантов и установившийся уровень ПОЛ более низкий, чем в нормальных клетках. В подтверждение этих явлений исследователи обнаружили, что АОА липидов опухолевых клеток и плазмы крови животных-опухоленосителей, а также онкологических больных выше, чем в норме, причем наблюдается резкое увеличение АОА по мере прогрессии опухоли. Надо, однако, отметить, что не при всех видах опухолей наблюдается такое явление. В этой связи уместно обратить внимание на гипотезу [88], согласно которой накопление свободных радикалов в липидах тормозит деление клеток, а биоантиоксиданты в определенных концентрациях, наоборот, стимулируют этот процесс, и им приписывается способность непосредственно вмешиваться в функцию генетического аппарата. Как бы то ни было, несомненно одно: изменение АОА

биомакромолекул опухолевых тканей и соответствующая динамика концентрации антиоксидантов в них являются важной биохимической особенностью злокачественного роста, изученной в последние два десятилетия. Поэтому так важны данные Н. М. Эмануэля, Е. А. Бурлаковой, Н. П. Пальминой и их сотрудников, которые установили, что если направленно изменять уровень АОА липидов, то тем самым можно влиять на течение опухолевого процесса. В качестве такого агента за последние несколько лет особенно хорошо зарекомендовал себя на практике синтетический антиоксидант ионол (дибунол). Он был предложен как противоопухолевое средство в секторе кинетики химических и биологических процессов Института химической физики АН СССР и оказался весьма эффективным при лечении не только раковых, но и других (воспалительных, ожоговых) болезней [128]. Механизм его действия состоит в торможении ПОЛ, когда оно при опухолевом росте выходит за рамки нормального. Кроме того, этот препарат может захватывать и инактивировать свободные радикалы, способные повреждать жизненно важные биомолекулы. Поэтому неудивительно, что он оказывает также радиозащитное действие, положительно влияет на течение ряда интоксикаций и препятствует нежелательным для организма превращениям канцерогенных веществ.

Поскольку накопленные к настоящему времени научные данные убеждают в несомненной важности сдвигов СРО и АОА липидов для развития злокачественных новообразований, то естественен вопрос, как влияют разные противоопухолевые препараты на процессы ПОЛ и АОА липидов. Так, было показано, что сразу после введения нормальным животным широко используемых в онкологической практике алкилирующих препаратов — миелосана, тиофосфамида, сарколизина, антиметаболитов (5-фторурацила, 6-меркаптопурина), антрациклиновых антибиотиков (блеомицина и др.) — в их печени резко падает АОА липидов. То же самое наблюдается под влиянием рентгеновского облучения и — что особенно интересно — стрессорных воздействий. При этом оказалось, что чем больше изменяется АОА после любого из перечисленных воздействий, тем оно сильнее влияет на опухолевый рост. Эти и другие подобные данные позволили прогнозировать противоопухолевый эффект изучаемых препаратов по степени изменения ими АОА липи-

дов. Кроме того, этот показатель позволяет правильно составить схему лечения, т. е. определить оптимальное время начала применения препарата, продолжительность интервалов между его введением и другие важные параметры.

Известно, что в настоящее время рентгенорадиотерапия злокачественных новообразований широко используется в медицинской практике и является одним из наиболее эффективных способов торможения деления клеток. Отсюда и несомненный научный и практический интерес к оценке АОА липидов на фоне лучевого воздействия на опухолевый процесс. Вспомним, что облучение приводит к снижению уровня АОА липидов, т. е. по этому показателю последствия действия ионизирующих излучений и опухолевый рост являются разнонаправленными процессами. Это тем более еще важно учитывать, что многие противоопухолевые препараты, прежде всего производные азотистого иприта и другие алкилирующие агенты, обладают лучеподобным действием. Значит, возможны определенные параллели при сопоставлении физического (радиация) и химического (цитостатический препарат) влияния на быстроразмножающиеся клетки. Для целей лечения опухолей используются, как правило, большие дозы радиации, и нередко здесь возникает нежелательное явление — та или иная степень лучевого поражения организма. В связи с этим было предложено применять химические средства защиты от ионизирующей радиации на опухоль. Оказалось, что ряд препаратов данного типа (некоторые производные оксипиридина, галловой кислоты, метилбензиламина и др.) при введении в организм изменяют АОА липидов, причем в малых дозах они увеличивают, а в больших, наоборот, уменьшают этот показатель. Естественно, что применение их в первом варианте будет способствовать радиорезистентности при массивных лечебных лучевых воздействиях. При дальнейшем изучении этого вопроса исследователи показали [87], что, изменяя дозу облучения и дозу антиоксиданта, можно наблюдать четыре вида реакций организма животных на их совместное действие: 1) защиту организма от облучения и одновременное уменьшение действия облучения на опухоль; 2) защиту опухоли от облучения при усилении радиационного поражения организма; 3) усиление действия облучения как на опухоль, так и на организм;

4) усиление действия облучения на опухоль с одновременной защитой организма. Ясно, конечно, что последний вид реакций организма на совместное действие радиации и антиоксидантов является единственно пригодным для практического использования. Однако достигается это при определенной стадии опухолевого процесса и его локализации, а также с обязательным учетом доз облучения.

Особое практическое значение имеет изучение свободнорадикальных процессов, АОО биомакромолекул и биохимических аспектов динамики антиоксидантов у онкологических больных, так как позволяет вплотную приблизиться к раскрытию сущности возникновения и развития опухолевых процессов у человека. Надо отметить, что благодаря инициативе советских ученых такие исследования в последние 15—20 лет стали проводиться все более широко. Так, при оценке свободнорадикальных состояний в опухоли и крови больных раком желудка было обнаружено [66], что концентрация свободных радикалов в метастазах в 3.5 раза выше, чем в неизмененной слизистой желудка, на периферии опухоли в 2 раза, а в центре ее в 1.5 раза больше, чем в непораженной ткани органа. Характерно и то, что концентрация свободных радикалов в крови, оттекающей от пораженного раковой опухолью желудка, особенно возрастала на терминальной, последней, стадии заболевания.

В другом исследовании [86] в лейкоцитах крови больных хроническим лимфолейкозом было также выявлено увеличение свободных радикалов, причем интенсивность сигнала ЭПР таких клеток превышала норму в 30—40 раз. В связи с этими данными было интересно оценить активность естественных антиоксидантов у опухолевых больных. Оказалось, что противooksидлительные системы их организма становятся своеобразными тушителями ракового процесса. Иными словами, речь прежде всего может идти о резком подавлении радикальных реакций окисления в липидах опухолевых клеток биоантиоксидантами, выполняющими защитную, ингибиторную роль. Действительно, в опухолевых клетках было отмечено повышенное количество природных веществ, обладающих сильными антиокислительными свойствами (некоторые фосфолипиды, витамины, а также убихинон, ионы Fe^{2+}). Уместно отметить также, что при исследовании сыворотки крови онкологических больных методом

хемилюминесценции ее свечение заметно ниже, чем у здоровых людей. Поскольку чувствительность этого метода чрезвычайно велика (позволяет определять до 10^{-15} моль активного продукта), то он становится перспективным в диагностике злокачественных новообразований. Например, при исследовании 348 больных злокачественными опухолями и 82 больных с предраковыми заболеваниями в 90.5% (!) случаев с помощью метода сверхслабого свечения были получены данные, подтверждающие диагноз [116].

Немалый диагностический интерес представляет также метод послесвечения, когда у здоровых людей и лиц с различными неопухолевыми заболеваниями через 5—6 мин после облучения сыворотки крови ультрафиолетовыми лучами возникает вспышка излучения в видимой части спектра. Если же у больного имелось злокачественное новообразование, то независимо от его локализации и вида эффект послесвечения, как правило, отсутствовал, что можно трактовать как результат экстренной защитной мобилизации организмом собственных антиоксидантов, связывающих свободные радикалы.

Изложенное, таким образом, дает основание считать, что в возникновении и развитии злокачественных новообразований большую роль играют характер и динамика протекания в организме свободнорадикальных процессов и уровень АОА липидов клеточных мембран. С другой стороны, эффективность химических и физических методов противоопухолевого лечения зависит от вызванного ими увеличения уровня ПОЛ.

Глава 8

КАНЦЕРОГЕНЫ В ПИЩЕ И АНТИОКСИДАНТЫ

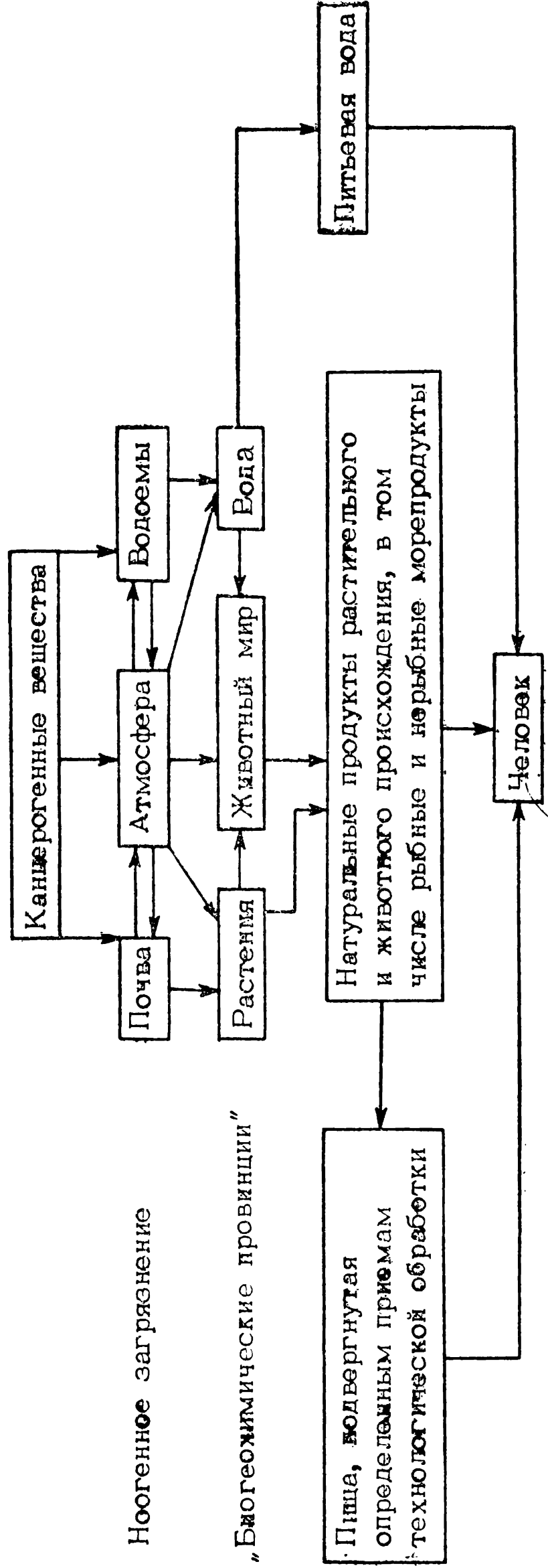
Канцерогены в пище

Роль фактора питания в онкологии многообразна, и вместе с тем очень обширны области, охватывающие различные стороны проблемы «Питание и рак». Достаточно лишь указать, что пища может быть причиной возникно-

вения у человека злокачественных новообразований в результате нарушения обмена веществ, вызванного недостатком или избытком ряда пищевых факторов. Кроме того, в пище могут содержаться природные химические канцерогены, а также чужеродные канцерогены, попадающие в нее из окружающей среды или возникающие из-за нарушений технологии ее приготовления. Изучение структуры заболеваемости раком во многих странах показало, что питание играет особенно значительную роль в развитии опухолей желудочно-кишечного тракта и гормонозависимых опухолей, таких как рак молочной железы, рак тела матки, рак предстательной железы. Удельный вес форм рака, причина которого связана с факторами питания, составляет примерно 40%. В нашей стране удельный вес рака желудка, прямой кишки и молочной железы, т. е. тех его форм, которые причинно связаны с питанием, в среднем равен 35% от общей заболеваемости раком [50]. Вместе с тем все больше накапливается данных о модифицирующем действии компонентов пищи на процессы опухолеобразования. Это открывает перспективы использования фактора питания для профилактики и лечения злокачественных новообразований.

Для того чтобы по возможности объективно оценить роль антиоксидантов пищи и значение антиоксидантного статуса организма в возникновении злокачественных новообразований и их течении, необходимо рассмотреть современное состояние данного вопроса в следующих направлениях: 1) канцерогенные вещества в пище человека и модифицирующее действие антиоксидантов на их активность; 2) возможности применения антиоксидантов для профилактики и лечения злокачественных новообразований.

Химические канцерогены в пище. В последние десятилетия защита человека от загрязнения биосферы продуктами и отходами его деятельности стала проблемой века. Изучение характера нарушений геогигиенического состояния биосферы под влиянием деятельности человека с целью их предупреждения и ликвидации является одним из важнейших аспектов этой проблемы. На это указывал около 20 лет назад один из основоположников геогигиены Н. В. Лазарев [70]. Химические канцерогены всегда находились в среде обитания человека, однако интенсивная деятельность человека привела к резкому увеличению числа соединений, обладающих бластомогенной



Ноогенное загрязнение

„Биогеохимические провинции“

Рис. 7. Круговорот канцерогенов во внешней среде и «пищевая цепь».

активностью, и росту их содержания в воздушном и водном бассейнах, в почве.

Все большее внимание в настоящее время привлекают исследования эпидемиологии опухолей, особенностей распространения злокачественных новообразований у человека в зависимости от природных условий проживания, биогеохимических отличий среды обитания и структуры питания. Важным аспектом этих исследований является выявление основных причин канцерогенизации пищи человека.

Круговорот канцерогенов во внешней среде и «пищевая цепь» схематически изображены на рис. 7. Из почвы, воды и воздуха канцерогены переходят в живой мир — растения, ткани животных и рыб, попадают в организм людей непосредственно или в составе продуктов питания. Видно, что особенности «биогеохимических провинций» и техногенной деятельности человека («ноогенное загрязнение») влияют на характер и степень загрязнения канцерогенами среды обитания и их передвижения по «пищевой цепи». Источниками загрязнения рациона питания могут быть натуральные продукты и технологическая обработка сырья посредством копчения, жарки, сушки и др. Наиболее существенным источником канцерогенов являются продукты растительного происхождения, ибо человек их непосредственно употребляет в пищу и, кроме того, через растительные корма они накапливаются в мясе, молоке, яйцах и других сельскохозяйственных продуктах животного происхождения. Так, имеются сведения, что человек за сутки потребляет канцерогенные полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) с водой, растительными маслами и овощами в соотношении 1 : 10 : 100. Специального внимания заслуживает наличие канцерогенных ПАУ в копченых продуктах и в сушеных дымом фруктах. Это не должно удивлять, поскольку при сгорании дров и другого топлива легко синтезируются ПАУ, которые из дыма попадают в продукты в процессе их копчения и сушки. Эпидемиологическими исследованиями установлена зависимость между количеством потребляемых копченых продуктов и относительно высоким уровнем заболеваемости раком желудка и пищевода. Так, в приморских рыбацких поселках, где много едят копченой рыбы, заболеваемость раком желудка выше в 3.5 раза, чем у населения отдаленных от моря районов [81].

Образование канцерогенных веществ при некоторых способах технологической обработки продуктов питания. Известно, что в процессе технологической обработки продовольственного сырья может происходить загрязнение канцерогенами, а также их образование из пищевых веществ.

К компонентам пищи, которые увеличивают риск злокачественных новообразований, относятся жиры. Результаты экспериментальных и эпидемиологических исследований показали, что высокий уровень жира в рационе увеличивает риск заболеваний раком толстой кишки, предстательной железы, молочной железы и тела матки. У лабораторных животных показано, что повышение в кормах доли жира приводит к росту частоты возникновения опухолей, как спонтанных, так и вызванных химическими канцерогенами. В то же время снижение количества жира в рационе уменьшает частоту их развития. Многие исследователи полагают, что жиры проявляют коканцерогенное действие. Имеется также гипотеза, согласно которой в механизме возникновения рака кишечника участвуют метаболиты холестерина, в том числе продукты его перекисного окисления. Предпосылкой для этой гипотезы служат известные данные о том, что в странах с низким уровнем потребления животных жиров и продуктов животного происхождения (Япония, Китай, Корея, страны Южной Америки и Азии) значительно реже встречается рак толстого кишечника и прямой кишки по сравнению с жителями Северной Америки и Европы, где уровень потребления животных жиров в несколько раз выше. Авторы этой гипотезы Редди и Виндер (цит. по: [100]) полагают, что под влиянием жира усиливается желчеотделение и поступление в толстый кишечник желчных кислот и холестерина, где под влиянием микрофлоры образуются различные продукты их окисления, обладающие канцерогенными свойствами. Так, показано, что при подкожном введении крысам копростанола, копростанона и некоторых других желчных кислот у них возникают саркомы. Установлено также, что высокожировая диета повышает количество в экскрементах таких же метаболитов желчных кислот и холестерина и увеличивает частоту рака толстого кишечника, вызываемого канцерогенами (например, нитрозаминами). Небезынтересно, что сходный эффект на частоту возникновения рака проявляет скормливаемое

крысам лекарство — холестирамин, который способствует выделению в кишечнике желчных кислот и холестерина. Таким образом, суть этой гипотезы состоит в том, что при потреблении большого количества животных жиров, мяса и других богатых животными жирами продуктов активизируется деятельность тех микробов, которые окисляют холестерин и желчные кислоты в канцерогенные метаболиты.

Перегретые жиры. Известно канцерогенное действие продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые образуются при интенсивном и длительном нагревании жиров в процессе многократной жарки продуктов. При жарке пищевые жиры нагреваются обычно до 160—200 °С, а в местах контакта с металлической посудой — до 400—600 °С. В домашних условиях обычно после жарки продуктов сковороды моют и удаляют остатки жира. В производственных условиях, например на рыбных комбинатах и предприятиях общественного питания, раньше нередко в аппаратах для обжаривания рыбы, картофеля, пирожков, пончиков и т. п. не удаляли жир, а добавляли новую порцию жира по мере необходимости. Длительное нагревание, на протяжении целого дня, а иногда и на следующий день, приводило к тому, что в перегретых жирах накапливались большие количества продуктов окисления и сополимеризации. Такие жиры темнеют, приобретают резкий неприятный запах и горький привкус. Многие исследователи показали, что перегретые жиры обладают канцерогенными свойствами. При добавлении их в корм экспериментальным животным они вызывают предраковые заболевания желудка (полипы, язвы, а у части из них и злокачественные опухоли). Примером могут служить следующие опыты [31]. Крысам скармливали подсолнечное масло (10% к массе рациона), которое в течение 14—15 ч термостатировали при 190 °С. Продолжительность опыта составляла 44 мес. За это время у 8 крыс из 97 появились злокачественные опухоли, тогда как у 48 крыс, получавших свежее подсолнечное масло, опухоли не возникли. Хотя канцерогенная активность перегретых жиров уступает классически сильным канцерогенам из группы ПАУ, однако игнорировать эту опасность не следует, ибо жареные продукты повседневно присутствуют в нашем рационе. Здесь уместно отметить, что канцерогенное действие перегретых животных жиров может быть обусловлено также

присутствием продуктов перекисного окисления холестерина. Так, у мышей констатировано развитие саркомы при введении под кожу растворов холестерина, гретого при температуре 270—280 °С в течение 30 мин, или ряда перекисных соединений холестерина. Имеются также данные о коканцерогенном действии перегретых жиров. Обнаружено, что на фоне включения в корм мышам и крысам перегретых жиров у них возрастает частота опухолей и скорость их развития при действии сильных канцерогенов (3-метилхолантрен и др.).

Следует иметь в виду, что жарка, равно как и копчение, мяса или рыбы в условиях высокого нагрева могут привести к образованию ряда канцерогенных веществ: бенз(а)пирена (БП) и других ПАУ, продуктов пиролиза триптофана. Показано, что при пиролизе белков возникают разнообразные вещества, обладающие выраженной мутагенной и канцерогенной активностью. Вместе с тем следует отметить, что эпидемиологическими исследованиями до сих пор полностью не доказана связь между потреблением жареной пищи и частотой рака желудка. Например, заболеваемость раком желудка в США прогрессивно уменьшается, несмотря на то что американцы продолжают есть много жареной пищи.

Нитрозамины, нитраты и нитриты. Многие нитрозамины (N-нитрозосоединения) в опытах на разных видах лабораторных животных проявили себя как наиболее сильные химические канцерогены. Нитрозамины (НА)

включают вещества типа
$$\begin{array}{c} R_1 \backslash \\ N=NO, \\ R_2 / \end{array}$$
 где R_1 — алкиль-

ный радикал, R_2 — любые соединения с аминогруппой. Установлена возможность их синтеза *in vivo* и *in vitro* из ряда аминосоединений при взаимодействии с нитритами. Примечательно, что реакция нитрозирования тормозится в присутствии ряда антиоксидантов, например витамина С, галлатов, бутилокситолуола.

НА содержатся во многих продуктах питания, особенно в мясных и рыбных; они могут попадать также с пищей, загрязненной некоторыми пестицидами. Их предшественники — амино- и амидосоединения, нитраты и нитриты — также находятся во многих продуктах питания. Относительно высокое содержание первичных и вторичных аминов обнаружено в рыбопродуктах и сырах. В процессе жарки и копчения изделий из мяса и рыбы

при пиролизе белков образуются из аминокислот пирролидин и пиперидин. Подсчитано, что при одном приеме пищи в организм человека может поступить около 10 мг различных нитрозируемых аминов. С другой стороны, нитраты и нитриты — природные соединения, их количество в продуктах зависит от состава почвы и резко возрастает от применения азотных удобрений. Большие количества их содержатся поэтому в различных овощах: шпинате, свекле, сельдерее, редисе, баклажанах, капусте, салате и др. Кроме того, нитриты в качестве пищевой добавки используются как консерванты и как средства, улучшающие цвет мясных и рыбных продуктов. Уместно отметить, что в продукты, предназначенные для детского питания, не разрешается введение нитритных добавок.

Нитраты и нитриты поступают также с водой, но основным их источником служат овощи и мясные гастрономические продукты (колбаса, ветчинные изделия и др.). Что касается количественной оценки канцерогенного риска нитратов и нитритов, то следует учитывать, что ежесуточное поступление нитратов составляет с водой не менее 20 мг, но может колебаться в пределах до 400 мг, с овощами — 210—400 мг, с мясными продуктами — 100—110 мг. Нитриты могут также образовываться в пище и в организме из нитратов под действием бактерий. Важно отметить, что бактериальное превращение нитратов в нитриты происходит у человека в протоках слюнных желез, в полости желудка, в кишечнике, в мочевом пузыре при их воспалительных заболеваниях. Таким образом, существует множество различных путей возникновения в организме человека канцерогенных НА. Возможная роль овощей и мяса как продуктов, содержащих предшественники НА, может быть проиллюстрирована исследованиями на людях, у которых после приема пищи, в составе которой были бекон и шпинат, значительно повысился уровень в крови НА.

Среди канцерогенных НА наиболее сильным является диметилнитрозамин (ДМНА), который вызывает опухоли у 6 видов лабораторных животных. Показана возможность образования ДМНА при одновременном введении в желудок крыс и мышей его предшественников: диметиламина и нитрита. Полагают, что эндогенное образование НА скорее всего служит фактором риска рака желудка, а возможно, и рака толстой кишки [132].

Поскольку нельзя избежать попадания в организм нитрозируемых аминосоединений и нитрозирующих агентов (нитритов и др.), необходимы поиски эффективных путей профилактики образований канцерогенных НА и ослабления их канцерогенного действия. Уместно отметить, что в настоящее время в разных странах в рамках «Программы ООН по окружающей среде» проводятся экспериментальные, гигиенические и эпидемиологические исследования с целью оценки опасности воздействия нитратов, нитритов и НА на здоровье человека, выявления факторов риска и разработки эффективных путей ограничения их неблагоприятного воздействия.

Антиоксиданты и канцерогены

Многие канцерогены, как это было показано, приобретают канцерогенные свойства после предварительного окисления, в результате которого образуются промежуточные «метаболически активированные» свободнорадикальные их формы, в свою очередь, инициирующие процессы ПОЛ в мембранах, а также непосредственно взаимодействующие с нуклеиновыми кислотами и белками. Поэтому очевидна вероятность снижения канцерогенной опасности с помощью антиоксидантов с различными механизмами действия: обладающих непосредственной антирадикальной активностью (токоферолы), связывающих супероксидные радикалы (супероксиддисмутаза и церулоплазмин), гасителей молекулярного возбуждения (каротиноиды и витамин А), разрушающих перекиси (тиолы, селензависимая глутатионпероксидаза) и др.

Сегодня имеется ряд фактов, свидетельствующих о том, что селен, витамины А, Е и С защищают от действия канцерогенов при определенных условиях проведения эксперимента на различных животных. В ряде экспериментальных работ показан антиканцерогенный эффект селена, который связывают с его антиоксидантными свойствами. Например, при скармливании крысам диметиламиноазобензола (ДАБ) или диэтилнитрозамина (ДЭНА) селенит натрия подавлял развитие опухолей печени соответственно на 65 и 97%. Представляют интерес также данные о том, что селенит натрия способствует репарации дефектной ДНК в результате воздействия

ДЭНА и уменьшает в клетках повреждения хромосом, вызванные диметилбенз(а)антраценом (ДМБА). Имеются сведения, что у больных раком уровень селена в крови ниже, чем у здоровых людей. На основании эпидемиологических исследований и данных о содержании селена в почве, в зерне и других растительных продуктах выявлена также отрицательная корреляция между заболеваемостью раком желудочно-кишечного тракта и содержанием селена в почве и этих продуктах [100]. Однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения антиканцерогенного действия селенита у человека.

За последние годы отмечается большой интерес к выявлению роли витамина А и β -каротина в химическом канцерогенезе. Результаты исследований свидетельствуют, что гиповитаминоз А увеличивает чувствительность животных к действию ряда канцерогенов, в то время как обогащение рациона животных витамином А или его предшественником β -каротином оказывает защитный эффект по отношению к ДМБА, БП и метилхолантрону. Имеются также данные о том, что витамин А и β -каротин эффективны при местном применении: нанесение их на кожу замедляло развитие папиллом при кожной аппликации ДМБА и БП. В то же время длительное применение больших доз витамина А может оказывать канцерогенное действие, что связывают с развитием состояния гипervитаминоза А.

Результаты эпидемиологических исследований в большинстве своем показывают, что повышенное потребление β -каротина (за счет богатых β -каротином овощей) снижает риск заболеваний раком легких, гортани, пищевода, желудка, толстой кишки, мочевого пузыря и предстательной железы. Однако обобщая эти материалы, Долл и Пито [132] не считают этот факт абсолютным доказательством того, что витамин А сам по себе служит протектором. Нельзя исключить при этом предположение, что наряду с β -каротином в данных продуктах содержатся другие компоненты, проявляющие защитные свойства, или что в рационе питания был более низким уровень потребления продуктов, содержащих канцерогены. Тем не менее независимо от того, является или нет β -каротин единственным защитным фактором, все же остается бесспорным, что богатые β -каротином продукты уменьшают риск заболевания раком.

Механизмы возможного антиканцерогенного эффекта витамина А многообразны, поскольку он обладает широким спектром биологического действия. Несомненно, противоопухолевый эффект витамина А может быть связан с его участием в процессах дифференцировки клеток и с тем, что он препятствует пролиферации опухолевых клеток, стимулирует противоопухолевый иммунитет и т. д. Кроме того, очевидно, что определенную роль играют его антиоксидантные свойства. Здесь же следует отметить, что β -каротин относится к поглотителям («тушителям») активных форм кислорода, которые могут индуцироваться канцерогенами. Ряд авторов связывают эффективность витамина А с возможным его влиянием на превращения канцерогенов микросомальными окислительными ферментами. Последние катализируют различные реакции превращения канцерогенов (например, деметилирование и N-гидроксилирование), которые приводят к образованию активных форм канцерогенов и менее активных метаболитов. Полагают, что витамин А препятствует активации ряда канцерогенов. Например, ДМБА может, очевидно, превращаться в жирорастворимые, активные формы канцерогена и в водорастворимые нетоксичные продукты. В модельных опытах при инкубации ДМБА с микросомами и тканями печени и молочной железы, взятых от крыс, получавших в течение 10 дней витамин А, обнаружено в несколько раз меньшее содержание жирорастворимых метаболитов ДМБА в инкубационной среде [69]. Таким образом, витамин А способствовал переключению метаболизма потенциального канцерогена на путь, ведущий к его обезвреживанию. Имеются также сообщения, что витамин А, подобно антиоксиданту ионолу, тормозит образование эпоксиметаболита БП.

Экспериментальные данные об антиканцерогенном действии витамина Е довольно противоречивы. Известно, что витамин Е тормозит биотрансформацию ряда ксенобиотиков, в том числе и канцерогенов. Так, под влиянием витамина Е снижается интенсивность микросомального окисления ДМНА, метаболиты которого обладают канцерогенными свойствами. В то же время активность бенз(а)пиренгидроксилазы уменьшается только при введении очень высоких доз витамина Е. Имеются данные, что при подкожном введении мышам БП одновременно с α -токоферолом происходит постепенная регрессия воз-

нящихся опухолей. Здесь уместно отметить, что синтетические фенольные антиоксиданты (ионол и бутилоксианизол) проявляют более определенный защитный эффект, чем природный фенольный антиоксидант, каким является витамин Е. Установлено, что ионол и бутилоксианизол значительно тормозят развитие опухолей различной локализации, индуцированных как прямыми канцерогенами, так и такими, которые становятся активными после превращений под влиянием микросомальных оксидаз. Антиканцерогенный эффект их, однако, зависит от дозы, стадии развития опухоли и от состояния антиоксидательной активности липидов. При определенных условиях они могут усиливать опухолевый рост. Нам неизвестны эпидемиологические работы, посвященные изучению влияния витамина Е на частоту возникновения онкологических заболеваний.

Имеются сообщения, что аскорбиновая кислота тормозит развитие опухолей, вызванных диметилгидразином и другими канцерогенами. У мышей, например, получавших аскорбиновую кислоту, было значительно меньше опухолей мочевого пузыря при имплантации пилюль с 3-гидрооксиантраниловой кислотой или под влиянием введения параоксибензилмолочной кислоты (метаболит триптофана). Эпидемиологические исследования в большинстве своем показывают, что преобладание в рационе продуктов, богатых витамином С, понижает риск заболевания раком желудка и пищевода. По-видимому, это следует связать с накопленными в последние десятилетия данными о том, что аскорбиновая кислота предотвращает или в большой степени снижает канцерогенный эффект образующихся в организме НА. Механизм защитного действия витамина С связан с тем, что в результате взаимодействия его с нитритами образуются окись азота и дегидроаскорбат. Тем самым создаются конкурентные взаимоотношения между витамином С и нитрозируемыми аминами или амидами за нитрит, что предотвращает синтез соответствующих НА. Эффективность витамина С была подтверждена в острых и хронических опытах на различных животных, которым давали с пищей или непосредственно вводили в желудок нитрит и какой-либо нитрозируемый амин, вызывающий опухоли различной локализации. Если, например, в желудок одновременно с нитритом натрия и диметиламином (ДМА) вводить аскорбиновую кислоту, то тормозится образование ДМНА

и свойственное ему токсическое действие. Демонстрируют сказанное следующие опыты, поставленные на крысах, которые получали полноценный рацион [101]. В корм животных 1-й группы добавляли ДМА, 2-й — нитрит натрия, 3-й — ДМНА, 4-й — ДМА + нитрит натрия, 5-й — ДМА + нитрит натрия + аскорбиновая кислота; 6-я группа служила контролем. Наблюдения за животными продолжались до естественной смерти (свыше двух лет). Как и следовало ожидать, больше всего опухолей и предопухолевых патологических изменений констатировано у животных 3-й группы: из 27 крыс, получавших ДМНА, опухоли обнаружены у 15 (50%), тогда как среди крыс 4-й и 5-й групп общая частота опухолей составляла соответственно 30 и 13%. В то же время у крыс 1-й и 2-й групп отсутствовали опухоли.

В связи с тем что в основном нитраты содержатся в овощах, которые одновременно служат главным источником в нашем рационе витамина С, представляют интерес сопоставления содержания их в ряде продуктов. Как видно из приведенных в табл. 6 данных, среди всех овощей лишь в картофеле обнаружено низкое содержание нитратов и соответственно низкое их соотношение с витамином С (0.1). Несмотря на то что лук зеленый, редька, брюква, петрушка богаты витамином С, содержание в них нитратов выше, и поэтому их соотношение изменяется в пользу нитратов. Особенно неблагоприятно это соотношение в моркови, свекле, сельдерее, салате и ревене. В то же время во фруктах низкий уровень нитратов и, следовательно, включение их в рацион может значительно улучшить сбалансированность в нашем питании соотношения нитратов и аскорбиновой кислоты. Кроме того, представляется очевидной целесообразность добавления витамина С для ограничения образования НА в ряд овощных блюд, а также в мясные и рыбные изделия, в которых используются нитраты и нитриты.

Итак, рассмотрение отдельных сторон взаимодействия канцерогены—питание—злокачественные новообразования показывает, что на различных этапах онкогенеза определенную роль играют процессы свободнорадикального окисления. Профилактика рака возможна не только на основе защиты пищи от канцерогенов, но и путем направленного воздействия с помощью коррекции структуры питания, рационального подбора продуктов, совершенствования технологии их приготовления. Очевидно,

**Содержание нитратов (NO_3^-) и аскорбиновой кислоты (АК)
в овощах и фруктах (по: [73]), мг/100 г**

Продукты	NO_3^-	АК	Соотношение $\text{NO}_3^-/\text{АК}$
Морковь	25.4 ± 0.95	5.0	5.1
Свекла столовая	114.0 ± 8.2	10.0	11.4
Брюква	44.2 ± 5.2	30.0	1.5
Сельдерей (корень)	135 ± 5.5	8.0	16.9
Петрушка:			
корень	106 ± 15.1	36.0	3.0
зелень	184 ± 24	150.0	1.2
Укроп	61.4 ± 10.1	100.0	0.6
Редис	116 ± 7.8	25.0	4.7
Ревень	234 ± 20.0	10	23.4
Редька черная	184 ± 5.0	29.0	6.3
Салат	290 ± 3.4	15.0	19.3
Лук зеленый	88.3 ± 6.3	30.0	2.9
Огурцы	10.1 ± 1.3	10.0	1.0
Капуста:			
белокочанная	10.2 ± 1.6	50.0	0.2
цветная	53.9 ± 0.7	55.0	1.0
Картофель	1.8 ± 0.2	20.0	0.1
Клубника	3.6 ± 0.3	60.0	0.06
Смородина:			
черная	0.9 ± 0.1	200.0	0.004
прочая	0.5 ± 0.1	35.0	0.01
Яблоки свежие	0.8 ± 0.1	13.0	0.06
Груши	0.4 ± 0.1	5.0	0.07
Вишня	0.3 ± 0.1	15.0	0.02

что рекомендации о составе рациона и о включении в него тех или иных компонентов пищи, проявляющих защитный эффект, могут быть в большей степени даны по отношению к конкретному канцерогену, когда известна его судьба в организме. На практике такая ситуация чаще встречается при разработке лечебно-профилактического питания для лиц, подвергающихся воздействию определенных токсичных веществ. Тем не менее приведенные данные позволяют заключить, что в повседневном питании должны в достаточном количестве присутствовать продукты, богатые витаминами А, Е и С и другими биоантиоксидантами.

ЗАБОЛЕВАНИЯ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ И АНТИОКСИДАНТЫ

В различные эпохи распространенность отдельных легочных заболеваний была неодинаковой. В древности и в средние века миллионы людей погибали от легочной чумы, которая сегодня полностью ликвидирована. Бичом человечества считался легочный туберкулез. До середины текущего века острое воспаление легких было причиной высокой смертности детей первого года жизни и лиц пожилого возраста. В настоящее время вследствие существенного улучшения материальных условий жизни населения, а также внедрения в практику эффективных химиотерапевтических средств и проведения целого ряда других лечебно-профилактических мероприятий в СССР резко снизилась смертность от острых пневмоний и туберкулеза. Однако отступающие в прошлое заболевания органов дыхания сменились другими недугами.

Все большее распространение получили хронические заболевания легких, и прежде всего бронхиальная астма, хронический бронхит и хроническая пневмония. Согласно статистическим данным, во многих индустриально развитых странах заболеваемость, инвалидность и смертность населения в связи с этими, так называемыми неспецифическими, заболеваниями легких приобретают угрожающий характер. Сейчас они занимают 3—4-е место среди причин смертности населения, уступая в этом отношении только сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям. Количество больных с хроническими неспецифическими заболеваниями легких составляет от 5 до 20% всего взрослого населения и в несколько раз выше числа больных туберкулезом и раком легких вместе взятых [118].

Учащение заболеваний хроническим бронхитом и бронхиальной астмой во второй половине 20 века объясняют широким распространением вредных привычек, особенно курения, прогрессирующей загрязненностью окружающей среды, запыленностью и загазованностью воздушного бассейна, а также возросшей аллергизацией населения в связи с химизацией различных отраслей промышленности, сельского хозяйства и быта, широким

бесконтрольным использованием антибиотиков и ряда других лекарств. Хотя эти болезни, как правило, не связаны с инфекционными причинами, однако они способствуют возникновению и неблагоприятному течению острых инфекционных процессов в легких.

Особое место занимает патология легких от воздействия раздражающих органы дыхания газообразных веществ, таких как озон, двуокись серы, окислы азота, аммиак, продукты неполного сгорания нефти, каменного угля, природного газа и др., выбрасываемые в окружающую атмосферу многими промышленными предприятиями и автотранспортом.

Причинами роста частоты респираторных заболеваний среди детей и обострения хронических бронхолегочных заболеваний у взрослых является повышение в атмосфере уровня окиси и двуокиси азота, образующихся при сгорании топлива. Характерно, что в смоге (смесь копоти и тумана) над большими городами самая высокая концентрация окислов азота регистрируется обычно утром, в часы «пик». Солнечная радиация инициирует фотохимические реакции окисления, в результате которых увеличивается в атмосфере уровень двуокиси азота, а затем и озона.

Среди веществ, загрязняющих атмосферу крупных промышленных центров, большое место занимают различные углеводороды (парафины, олефины, ацетилены и ароматические углеводороды). Сами по себе, находясь в воздушной среде, они проявляют низкую токсичность, однако заслуживает внимания их фотохимическая активность, которая появляется при действии солнечного света и окислов азота. Вторичными продуктами фотохимических реакций являются озон, перекиси, альдегиды, кетоны, оксикислоты и другие продукты окисления, приводящие к накоплению в атмосфере свободных радикалов (так называемый фотохимический смог).

К наиболее распространенным загрязнителям воздушного бассейна относятся также двуокись серы (бесцветный газ с резким раздражающим запахом) и образующийся из нее в результате окисления атмосферным кислородом серный ангидрид. Во влажном воздухе и в присутствии окислов азота и углеводородов эта реакция идет гораздо быстрее. Названные вещества и ряд других реакционно активных свободных радикалов, возникающих в процессе фотоокисления, могут вызывать

острые заболевания органов дыхания (пневмонии, бронхиты) вплоть до токсического отека легких. Наряду с этим длительное воздействие относительно низких концентраций указанных вредных газов способствует появлению хронических неспецифических заболеваний легких, и в первую очередь хронического бронхита. Это заболевание характеризуется прогрессирующим поражением бронхиального дерева воспалительным процессом с последующими склеротическими изменениями стенки бронхов.

Процесс формирования острых и хронических неспецифических заболеваний легких сложен, и отдельные их формы имеют свои характерные патофизиологические черты развития и течения. Однако исследования, выполненные главным образом в последние десятилетия, свидетельствуют о несомненной роли в патогенезе бронхолегочной патологии нарушений структуры и функции мембран, активации процессов свободнорадикального окисления и синдрома антиоксидантной недостаточности.

Легочную ткань из-за многочисленности альвеол и капиллярно-альвеолярных контактов рассматривают как одну из наиболее обширных биологических мембран в организме. Между тем биологические мембраны, как известно, определяют морфологическую целостность клетки и внутриклеточных органелл, рецепцию клеток, способность к интеграции, ионную проницаемость, транспорт метаболитов и большинство других биохимических процессов. Следует напомнить, что изменение структурной организации биомембран отражается на их функциональных свойствах и влечет за собой изменение активности мембранозависимых ферментов. Так, дестабилизация митохондриальных мембран ведет к торможению всех энергозависимых процессов, а нарушение структуры лизосомальных мембран приводит к выходу гидролитических ферментов из лизосом, что вызывает гибель внутриклеточных органелл, клетки и деструкцию окружающей ткани. Повреждение поверхностной цитоплазматической мембраны нарушает селективный (избирательный) транспорт ионов, увеличивает проницаемость и приводит к отеку и гибели клетки. В то же время, несмотря на разнообразие мембраноповреждающих агентов, их эффект реализуется по таким универсальным молекулярным механизмам, как перекисное окисление мембранных

липидов, действие фосфолипаз, механическое (осмотическое) растяжение мембраны, адсорбция макромолекул.

Достижения мембранологии, появление методов изучения структуры и функции биомембран в норме и при патологии позволили установить, что подавляющее большинство острых и хронических бронхолегочных заболеваний следует рассматривать с позиции мембранной патологии.

При бронхолегочных заболеваниях нарушение структуры биомембран изменяет функцию клеток аэрогематического барьера, что сопряжено с ослаблением дыхательной функции легких и развитием гипоксии. Следствием повреждения легочного эпителия и интенсивного воспалительного процесса являются изменения метаболизма ряда биологически активных веществ (кининов, простагландинов и др.) и образование патогенных медиаторов воспалительных и аллергических реакций липидного происхождения (лейкотриенов и др.). Мембраноповреждающее действие при воспалительных процессах оказывают также протеолитические ферменты погибших лейкоцитов и бактерий и их токсины. Многообразна роль мембранной патологии при бронхиальной астме и других аллергических заболеваниях.

Большое значение в нарушении структуры и функции легочной ткани и повышении сосудисто-тканевой проницаемости теперь придается процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) и развитию явлений антиоксидантной недостаточности. Как уже отмечалось, избыточное свободнорадикальное окисление (СРО) и истощение системы антиоксидантной защиты приводят к чрезмерному накоплению продуктов ПОЛ, вызывающих изменение целостности биомембран вплоть до разрушения их структуры. При рассмотрении причин преобладания процессов пероксидации при легочных воспалительных заболеваниях необходимо особо отметить, что активные формы кислорода (супероксид-анион, перекись водорода) способны выделять в процессе фагоцитоза нейтрофилы, макрофаги, в том числе и альвеолоциты. Бактерии, в свою очередь, также генерируют и выделяют в окружающую среду супероксидные радикалы. Характерны нарастание уровня свободных радикалов и интенсификация ПОЛ при токсикозах, сопровождающихся лихорадкой.

Мембранотоксическое действие избыточных концентраций ПОЛ наряду с нарушением липид-липидных

взаимоотношений в биомембранах легких обусловлено их влиянием на белковый компонент мембраны в результате связывания продуктов ПОЛ с тиоловыми группами, что также нарушает белково-липидные взаимоотношения. Наряду с этим повышается доступность гидрофобного слоя мембран действию фосфолипаз и протеолитических ферментов. Одновременно СРО липидов в легочной ткани увеличивает накопление продуктов ПОЛ в плазме крови (например, в структурах липопротеидов), особенно выраженное при осложнении основного заболевания токсикозом.

За последние годы учеными Москвы, Ленинграда, Еревана, Тюмени, Одессы в результате глубоких исследований получено много данных об активации ПОЛ в легочной ткани и в крови при острых и хронических бронхолегочных заболеваниях. При этом большинство авторов указывают на наличие определенной корреляции между тяжестью заболевания и выраженностью процессов ПОЛ. При этом было установлено, что при инфекционно-аллергической и атопической формах бронхиальной астмы у взрослых больных во всех фазах заболевания увеличено содержание липидных перекисей и снижено количество фосфолипидов в мембранах эритроцитов. Наиболее интенсивное ПОЛ отмечено при астматическом состоянии и в период приступа астмы при тяжелом течении заболевания. Это, как правило, сопровождается снижением уровня α -токоферола в крови и изменением активности супероксиддисмутазы в крови. По мере увеличения продолжительности заболевания в активной фазе происходит прогрессивное нарастание этих сдвигов. После приступа астмы и успешного применения в комплексном лечении антиоксидантов, особенно кортикостероидных гормонов, все названные показатели проявляют тенденцию к нормализации [118].

Аналогичные результаты были получены и у детей. Так, обнаружено более высокое содержание продуктов ПОЛ (гидроперекисей, малонового диальдегида, оснований Шиффа) в бронхиальном секрете и крови как во время приступов астмы, так и в после- и межприступные периоды. У больных со среднетяжелой и тяжелой формами бронхиальной астмы одновременно наблюдается дефицит эндогенных антиоксидантов. Применение в комплексном лечении бронхиальной астмы витамина Е и природных фосфатидов (линоцеребрин или церебрале-

дитина), которые повышают антиокислительную активность (АОА) токоферола, оказывает благоприятное действие на течение бронхиальной астмы, особенно в после-приступный период. На фоне антиоксидантной терапии быстрее исчезали клинические и биохимические нарушения, вызванные синдромом пероксидации, сокращалась длительность пребывания детей в стационаре до периода наступления ремиссии [44].

Таким образом, при бронхиальной астме значительно снижается активность разных звеньев антиоксидантной системы, что приводит к накоплению продуктов ПОЛ, принимающих участие в патогенезе этого заболевания.

Основываясь на данных о том, что продукты СРО липидов являются универсальными клеточными и субклеточными ядами, В. С. Бирюковым [12] был предпринят широкий круг исследований с целью изучения распространенности этого патогенетического механизма при токсических состояниях различной этиологии у детей. Критериями активности процессов СРО служили: количество в эритроцитах гидроперекисей липидов, содержание в крови и плазме малонового диальдегида (МДА) и интенсивность хемилюминесценции сыворотки крови, а также активность супероксиддисмутазы (СОД). В результате обследования 313 больных детей с различными заболеваниями установлено, что при токсических состояниях неспецифически усиливаются показатели ПОЛ. Обнаружено, что при острых пневмониях у детей раннего возраста в разгаре процесса значительно увеличиваются показатели ПОЛ, максимально выраженные у больных с тяжелым токсикозом. При этом активность СОД в эритроцитах и плазме оказалась повышенной, что автором расценивается как компенсаторная реакция организма на усиление процессов пероксидации. При тяжелой пневмонии у детей с явлениями интоксикации развивалась анемия и было отмечено повышение более чем в 2 раза содержания свободного гемоглобина в плазме крови, что указывает на усиленный распад эритроцитов. В период выздоровления происходила нормализация процессов ПОЛ в эритроцитах и уровня свободного гемоглобина в плазме крови. При этом включение α -токоферола в комплексную терапию давало положительный клинический эффект.

Другие работы подтверждают эти данные. Так, у детей раннего возраста при пневмонии, осложненной ней-

ротоксикозом, в сыворотке крови и спинномозговой жидкости обнаружено повышение в 1.5—2 раза МДА. При исчезновении неврологической симптоматики и улучшении общего состояния происходило снижение концентраций этого продукта ПОЛ [8]. На взаимосвязь функционального состояния мембран эритроцитов и показателей ПОЛ в плазме крови с тяжестью и периодом заболевания острой пневмонией у детей в возрасте от 6 мес до 3 лет указывают другие авторы [14]. Ими было обнаружено, что в разгар острой пневмонии наряду с понижением содержания калия в эритроцитах (показатель функционального состояния мембран) уровень МДА в плазме крови был в 1.5—2 раза выше, чем у детей контрольной группы. В этот период АОА плазмы сопряженно уменьшалась. Улучшение состояния детей, стихание воспалительного процесса сопровождалось нормализацией проницаемости мембран эритроцитов для ионов калия, восстановлением уровней МДА и АОА плазмы крови. Для тяжелых форм пневмонии, как уже указывалось, следствием патологии мембран являются повышенный распад эритроцитов и развитие анемии. Как показали наблюдения за больными детьми (возраст от 2 недель до 3 лет), получавших в разгаре заболевания витамин Е и липоевую кислоту, по сравнению с группой детей, где эти антиоксиданты не применялись, благоприятное действие на клиническое течение пневмонии сопровождалось снижением интенсивности гемолиза эритроцитов, что предупреждало наступление анемии [97].

Что касается лечебного применения антиоксидантов, то включение витамина Е в комплексную терапию токсических острых пневмоний у детей первого года жизни с умеренно и резко выраженным токсическим синдромом давало положительный эффект: уменьшение почти в 2 раза продолжительности физикальных изменений в легких и длительности токсикоза, сокращение на 5—7 дней сроков пребывания больных в клинике. В то же время при затяжном течении пневмонии витамин Е был неэффективен.

Специального обсуждения заслуживает целесообразность применения антиоксидантов у новорожденных и недоношенных детей при дыхательных расстройствах, гипоксических состояниях и в других случаях легочной патологии, когда в комплексе неотложных терапевтических мероприятий используется интенсивное лечение

кислородом, особенно искусственная вентиляция легких воздухом с высокой концентрацией кислорода (60—80 %). При этом возможно повреждение легких с последующим формированием острой или затяжной воспалительной реакции, когда возрастает образование свободных активных радикалов кислорода. Это имеет место при проведении кислородотерапии, особенно под повышенным давлением. Потенциальная опасность неблагоприятных последствий лечения кислородом увеличивается при антиоксидантной недостаточности. Важно отметить, что в таких случаях гипоксия, для купирования которой применяется кислородотерапия, также провоцирует образование супероксид-аниона и перекисных радикалов. У новорожденных и особенно недоношенных детей predisposing фактором к повреждению легких при лечении кислородом гипоксических состояний может служить часто отмечающийся у них гиповитаминоз Е.

Таким образом, кислородотерапия должна служить одним из важнейших показаний к применению антиоксидантов. Для коррекции антиоксидантной недостаточности здесь можно рекомендовать комбинацию витамина Е с липоевой кислотой, которая хорошо себя зарекомендовала при лечении у детей раннего возраста тяжелых форм пневмоний, осложненных токсикозом. К этому следует добавить, что под влиянием последних не только предупреждается токсическое действие кислорода на органы дыхания, но и уменьшается возможность развития других осложнений кислородного лечения, таких как поражения глаз. Так, применение витамина Е предотвращает развитие повреждения сетчатки у новорожденных [102].

Итак, приведенные данные позволяют заключить, что антиоксиданты — необходимый компонент лекарственного лечения острой пневмонии, особенно при токсикозе, а показатели активности процессов ПОЛ в эритроцитах и плазме крови могут быть использованы для оценки степени метаболических расстройств при этом заболевании и могут служить объективным критерием эффективности проводимого лечения.

Силикоз. К распространенным и в то же время неблагоприятным в прогностическом отношении профессиональным заболеваниям относится силикоз. Заболевание это присуще рабочим горнорудной промышленности и распространено в металлургии, машиностроении и дру-

гих металлообрабатывающих предприятиях, на фарфоровых, стекольных и абразивных производствах. Сущность силикотического процесса состоит в прогрессирующем фиброзе легочной ткани, наступающем в результате первичной реакции альвеолярного макрофага на кварцевую пыль и его гибели, ведущей к интенсивной клеточной пролиферации и склерозу соединительной ткани.

Большое число научных коллективов в нашей стране и за рубежом свыше 50 лет занимаются изучением механизма развития этого вида пылевой патологии легких. Однако до сих пор остаются неясными многие вопросы, в частности причина высокой агрессивности кремниевой пыли и пусковые механизмы ответной реакции организма, непосредственно интенсифицирующие процесс коллагенообразования и формирования типичного силикотического узелка.

Уже относительно давно констатирована связь фиброгенного действия кремнезема с особенностями кристаллической структуры и с физико-химическими свойствами поверхности пылевых частиц. Кварц представляет собой непрерывную связь кремнекислородных тетраэдров, в которых каждый атом кремния окружен четырьмя атомами кислорода. Многие ученые, сторонники токсико-химической гипотезы происхождения силикоза, связывают фиброгенные свойства кварцевой частицы с процессами, происходящими на ее поверхности и обусловленными особенностями строения кристаллической решетки. При постоянно происходящем в процессе обработки кремнезема механическом разрушении частиц на поверхности разлома накапливаются избыточные заряды и кислород с ненасыщенными валентностями в результате разрыва многих кислородных мостиков между атомами кремния. При этом происходит образование гидроксильных групп. Согласно развиваемой в последнее время поверхностно-активной теории, причина особой фиброгенности кварца по сравнению с не содержащей кремния пылью может быть обусловлена тем, что образующиеся на поверхности разлома свободные радикалы в присутствии кислорода при контакте с легочной тканью катализируют процессы ПОЛ в мембранах альвеолярных макрофагов. Усиление ПОЛ в фагоцитировавшей кварц клетке (кониофаг) последовательно вызывает дестабилизацию лизосомальных мембран, распад лизосом, повышение содержания гидролитических ферментов вне органелл, гибель ко-

ниофага, деструкцию окружающей ткани, активирование образования склеропротеинов и синтеза коллагена и, наконец, формирование гранулемы — силикотического узелка.

Обобщая данные о патогенезе силикоза, Б. Т. Величковский и Б. А. Кацнельсон [20] приходят к заключению, что в пользу рабочей гипотезы о перекисном механизме развития фиброза свидетельствуют следующие факты:

- накопление продуктов ПОЛ в суспензии инкубированных с кварцевой пылью эритроцитов и альвеолярных макрофагов, а также в фосфолипидах легких крыс с экспериментальным силикозом;

- снижение общей антиокислительной активности липидов легочной ткани;

- повышение содержания липидов в альвеолярных макрофагах и в легочной ткани на ранней стадии экспериментального силикоза;

- усиление фиброза при экспериментальном силикозе у крыс в случае повышения в рационе жира, особенно богатого ненасыщенными жирными кислотами и содержащего продукты их окисления;

- торможение развития экспериментального силикоза под влиянием антиоксидантов (α -токоферола, селенита натрия, метионина совместно с пиридоксином);

- сходство патоморфологической картины силикоза с атеросклерозом и некоторыми другими заболеваниями, характеризующимися в конечном счете развитием фиброза, в которых также обнаружено накопление липидов и интенсификация ПОЛ;

- усиление ПОЛ при легочной патологии, возникающей в связи с хроническим действием озона, двуокиси азота и ряда других токсических агентов, обладающих фиброгенными свойствами;

- большая агрессивность свежераздробленной пыли и эффективность ряда мероприятий, направленных на гидратирование кварцсодержащей пыли и ее «доставление».

Итак, высокая фиброгенная активность кварца связана со свободнорадикальными процессами окисления, происходящими на поверхности твердой пылевой частицы, которые инициируют ПОЛ мембран макрофагов.

Таким образом, на современном этапе наших знаний при многих бронхолегочных заболеваниях несомненно неблагоприятное действие чрезмерной активации ПОЛ на фоне недостаточности антиокислительных механизмов защиты биомембран и организма в целом. Доказано также мембраностабилизирующее действие и положительный терапевтический эффект лекарственных средств с высокой антиокислительной активностью. В связи с этим патогенетически оправдано их широкое применение в комплексной терапии многих заболеваний органов дыхания.

Глава 10

СТАРЕНИЕ, СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И АНТИОКСИДАНТЫ

Согласно классификации, одобренной конгрессом геронтологов и гериатров, население старше 60 лет подразделяется на 3 возрастные группы: лица пожилого возраста — от 61 года до 74 лет; лица старшего возраста — 75—89 лет; долгожители — 90 лет и старше. В нашей стране в связи с постоянным улучшением условий жизни на протяжении последних пяти десятилетий удельный вес пожилых и старых людей увеличился почти в 2 раза. Средняя продолжительность жизни непрерывно возрастает и в настоящее время перешла за рубеж 70 лет. По прогнозам Организации Объединенных Наций, к 2000-му году средняя продолжительность жизни в экономически развитых странах составит 73.3 года [по: 117]. Социальные предпосылки увеличения продолжительности жизни в нашей стране уже созданы, поэтому дело сейчас за медико-биологической наукой, которая ставит своей целью изыскание путей продления жизни человека с максимальным сохранением его умственных способностей и физической активности.

По современным представлениям, старение — неизбежно возникающий, закономерно развивающийся разрушительный процесс, связанный с ослаблением всех функций на всех уровнях их организации — молекулярном,

клеточном, тканевом, органном, системном, целостного организма. При этом характерно ограничение адаптационных возможностей организма и развитие возрастной патологии, что является результатом нарушения механизмов регуляции обмена и функции клетки. Старость у разных людей наступает в разные сроки. На продолжительность жизни большое влияние оказывают образ жизни человека, климато-географические условия проживания, характер труда, структура питания, вредные привычки. В числе болезней, сокращающих жизнь, главными являются: атеросклероз, рак и неспецифические заболевания легких.

За последние десятилетия было предложено более 200 теорий и гипотез старения. И ни одна из них не является до сих пор общепризнанной. Тем не менее современные теории в конечном итоге базируются на двух основных концепциях. Одна из них исходит из межтканевых и системных отношений в организме и представлений о ведущей роли системно-физиологических (главным образом нейроэндокринных) механизмов старения. Другая — ставит на первое место нарушения физических и химических внутриклеточных процессов жизнедеятельности, в частности ген-регуляторных механизмов.

В процессе старения происходит накопление и суммация повреждений, возникающих в жизненно важных системах. Тем или иным путем изменяется соотношение активности отдельных сторон обмена веществ и неферментативных процессов регуляции. Однако благодаря мобилизации адаптивных систем и компенсаторных механизмов возможно сохранение гомеостаза в течение длительного времени. Согласно выдвинутой свыше 20 лет назад известным геронтологом В. В. Фролькисом адаптационно-регуляторной теории, возрастные изменения являются результатом взаимодействия двух противоположных процессов — разрушительного процесса старения и процесса, стабилизирующего жизнеспособность организма, благодаря которому поддерживается гомеостаз. Под влиянием неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды с увеличением возраста механизмы адаптации изнашиваются, стареют. Темп их старения зависит от частоты и степени вызываемых следовых изменений в биологических структурах и макромолекулах (прежде всего ДНК и белка). Таким образом, исходя из этих воззрений, предупреждение преждевременного старения должно сводиться к предупреждению и ослаблению действия возмущающих внеш-

них и внутренних причин. Выяснение ведущих механизмов старения на молекулярном уровне является необходимой научной базой для разработки комплекса защитных мероприятий, направленных на замедление процессов естественного старения.

Старение и свободные радикалы

Среди многочисленных гипотез, пытающихся объяснить универсальные первичные механизмы старения, все большее внимание привлекает свободнорадикальная теория, предложенная Харманом в 1957 г. Согласно этой теории, причиной всех возрастных молекулярных повреждений в мембранах, генетическом аппарате клетки и других внутриклеточных структурах являются свободные радикалы и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижающие активность ферментов, нарушающие функцию мембран и приводящие к накоплению в лизосомах так называемых пигментов старения.

Уже неоднократно указывалось, что инициатором большинства свободнорадикальных реакций является супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$). Поскольку около 90% потребляемого кислорода подвергается превращениям в митохондриальной дыхательной цепи, естественно, что основными источниками эндогенных свободных радикалов являются митохондрии, в которых образуется около 75% от общего потока $O_2^{\cdot-}$ в клетке. Это дало основание Харману высказать мнение, что митохондрии являются молекулярными часами и что максимальная продолжительность жизни связана со скоростью потребления кислорода, интенсивностью основного обмена.

Другим источником свободнорадикальных процессов является образование $O_2^{\cdot-}$ и участие его во многих ферментативных реакциях. Свободные радикалы возникают при атаке $O_2^{\cdot-}$ и гидроксильного радикала на различные биологические молекулы. К ним относятся липидпероксидные радикалы, пиримидин- и пуринорадикалы. Полагают, что многие повреждающие эффекты обусловлены опосредованным действием $O_2^{\cdot-}$ через эти вторичные свободные радикалы.

Образование $O_2^{\cdot-}$ имеет место при аутоокислении различных молекул, включая гидрохиноны, катехоламины, тиолы, тетрагидроптерины, ферродоксины, гемоглобин.

Многие чужеродные вещества также подвержены ауто-окислению в организме. Наконец, свободные радикалы присутствуют в воздушной атмосфере, а продукты ПОЛ в пище.

Таким образом, в процессе развития организм подвергается различным воздействиям, которые должны приводить к накоплению продуктов свободнорадикального окисления (СРО), о чем свидетельствуют экспериментальные данные. К примеру, концентрация свободных радикалов в ткани головного мозга крыс в возрасте 30 мес значительно выше, чем у 10-месячных животных.¹

Повреждение биологических систем свободными радикалами

Многokrатно указывалось, что свободные радикалы активно реагируют с различными биомолекулами. Так, в результате их воздействия на полиненасыщенные жирные кислоты возникают перекисные радикалы, которые в последующем превращаются в альдегиды, которые способны играть роль «сшивателей» макромолекул. Реакцию «сшивания» инициируют также образующиеся в процессе обмена свободнорадикальные формы хинонов и металлов переменной валентности. Однако наибольшее значение придается образованию «сшивок» малонового диальдегида и оснований Шиффа с белками, фосфолипидами и нуклеиновыми кислотами. Продукты этих реакций могут по размеру в несколько раз превосходить исходные биомолекулы. В результате прочных связей они не подвергаются разрушению в лизосомах и накапливаются с возрастом. Поэтому такие биополимеры, как например, липофусцин, названы пигментами старости.

Реакция «сшивания» и образование поперечных связей в белках и нуклеиновых кислотах лежат в основе коллоидной теории старения, предложенной еще в 1924 г.

¹ Надо, однако, иметь, в виду, что некоторыми исследователями методом ЭПР в ряде органов стареющего организма было установлено понижение уровня свободных радикалов. Вероятно, данное явление отражает общее снижение интенсивности обмена веществ, в первую очередь окислительно-восстановительных реакций, свойственное процессу старения. На этом основании можно полагать, что оно не противоречит гипотезе о роли свободных радикалов как одной из причин старения (см.: [6]).

Ружичкой, который считал, что увеличение с возрастом поперечных «сшивок» в биополимерах, особенно в коллагене, ведет к потере клеточной интеграции. Подтверждением этой концепции может служить то, что коллаген, выделенный из легких старых людей, содержит больше нерастворимых в воде фракций, чем коллаген молодых лиц. Это свидетельствует о том, что в молекуле коллагена между полипептидными цепями с возрастом усиливается процесс образования перекрестных связей.

К сказанному можно добавить, что продукты ПОЛ как ингибиторы сульфгидрильных ферментов способствуют при старении накоплению дисульфидных групп в белках, а с изменением активности мембранно-связанных ферментов, очевидно, связано возрастное понижение метаболизма ксенобиотиков в эндоплазматическом ретикулуме.

Таким образом, универсальность свободнорадикальных реакций и множество причин, вызывающих их активацию, позволяют полагать, что свободные радикалы играют существенную роль в накоплении необратимых повреждений, лежащих в основе старения.

В литературе приводятся данные (см.: [29]), согласно которым старение можно рассматривать как следствие токсического действия кислорода. Косвенным подтверждением этого предположения является сходство ряда признаков естественного старения и токсического действия кислорода, в том числе и накопление липофусцина. Характерно также сокращение продолжительности жизни животных, длительно подвергавшихся действию повышенных концентраций кислорода. В то же время снижение парциального давления кислорода в воздушной среде увеличивает продолжительность их жизни.

Возраст и антиоксидантная защита

С точки зрения свободнорадикальной теории старения несомненный интерес представляет рассмотрение состояния антиокислительной системы в возрастном аспекте. Так, имеются данные, что у старых крыс и мышей значительно понижена удельная активность супероксиддисмутазы (СОД) — ключевого фермента противокислительной защиты и глутатионпероксидазы. В тканях ряда органов старых мышей обнаружено снижение суммарной антиоксидантной активности липидов и концентрации восста-

новленного глутатиона [29]. В крови у старых людей нередко встречается снижение уровня селена и тиоловых соединений.

Ряд авторов рассматривают снижение содержания витамина С в плазме и форменных элементах крови как характерное следствие возрастных сдвигов. В частности, было показано, что в различных тканях людей в возрасте 89 лет содержание витамина С было значительно меньшим, чем у годовалых детей. Но отрывочный характер данных о возрастных изменениях отдельных компонентов антиоксидантной системы не позволяет еще прийти к заключению об их непосредственной связи с процессами старения. Следует также иметь в виду, что уровень процессов СРО и нарастание повреждений биомембран зависят от соотношения скоростей образования и обезвреживания радикалов, т. е. от степени уравновешенности этих процессов. Поэтому оба эти компонента необходимо одновременно учитывать для установления связи между интенсивностью СРО и продолжительностью жизни. Можно предположить, что при старении нарушена сбалансированность между интенсивностью генерации свободных радикалов и активностью антиоксидантной системы защиты. Однако имеющихся на этот счет в настоящее время сведений еще недостаточно, чтобы со всей определенностью утверждать наличие такой закономерности. В этой связи интересными представляются попытки нахождения корреляции между продолжительностью жизни и потреблением кислорода, так как уровень генерации супероксидных и других радикальных форм кислорода, по всей вероятности, находится в прямой связи с уровнем утилизации кислорода. В одной из недавних работ было показано [38], что с увеличением продолжительности жизни вида животных во всех основных органах возрастает отношение удельной активности СОД к интенсивности основного обмена, который, как известно, отражает уровень потребления кислорода. Так, например, при максимальной продолжительности жизни домовый мыши 3.5 года, зеленой мартышки 30 лет, гориллы 50 лет и человека свыше 95 лет это отношение в печени соответственно равно 0.08, 0.50, 0.89 и 1.161.

Интересной также является обнаруженная В. А. Гусевым и Л. Ф. Панченко [38] зависимость между сроком жизни форменных элементов крови, их способностью к экзогенной генерации $O_2^{\cdot -}$ и активностью СОД. Как из-

вестно, у лимфоцитов самый большой срок жизни (годы), они экзогенно не генерируют O_2^+ и характеризуются высоким уровнем удельной активности СОД. Срок жизни гранулоцитов, напротив, составляет всего 12—14 ч. У этих клеток самая низкая удельная активность СОД и в то же время они активно продуцируют радикалы O_2^+ , с помощью которых осуществляется их бактерицидное действие при фагоцитозе. Для этой цели расходуется большая часть потребляемого гранулоцитами кислорода. Таким образом, у гранулоцитов налицо дисбаланс между высоким уровнем свободнорадикальных процессов и обеспеченностью их СОД. С этим, очевидно, можно связать быструю гибель фагоцитов.

Помимо этих данных, в пользу свободнорадикальной теории старения указывает сходство проявлений многих морфологических признаков старения и Е-авитаминоза, отмеченное впервые О. Н. Воскресенским и соавторами [29]. Характерно также, что при состоянии хронической С-витаминной недостаточности и при длительной недостаточности серосодержащих аминокислот в артериальной стенке экспериментальных животных развиваются изменения, напоминающие атеросклероз. Более того, при содержании кроликов на полусинтетическом рационе, почти лишенном биоантиоксидантов (витаминов Е и С, полифенолов), у них появляются биохимические и морфологические признаки старения [29]. Следовательно, при моделировании картины антиоксидантной недостаточности удастся воспроизвести проявления старения.

Представленные данные и известные факты, что для преждевременного старения характерно наличие антиоксидантной недостаточности, не только подкрепляют свободнорадикальную теорию старения, но и служат научным обоснованием поиска геропротекторов среди средств, регулирующих антиоксидантную систему организма.

Антиоксиданты как геропротекторы

Для предупреждения преждевременного старения и увеличения естественной продолжительности жизни (геропротекции) были испытаны многие способы и препараты с различными механизмами действия. Прежде всего отметим, что одним из путей увеличения продолжительности жизни лабораторных животных является низкокало-

рийное питание. В этом плане весьма демонстративными являются исследования, выполненные В. Н. Никитиным и сотрудниками [83]. Опыты ставились на белых крысах, содержащихся начиная с месячного возраста в течение 100 дней на низкокалорийном сдерживающем рационе, в котором белка и витаминов было столько же, сколько в корме контрольных животных. Затем на короткое время подопытных крыс переводили на стандартный рацион до увеличения массы тела на 10 г, после чего снова возвращали на сдерживающую рост диету. На таком перемежающемся по энергоценности рационе крыс содержали от одного до двух лет, а затем они получали корм неограниченно. Животные начинали быстро расти, однако не вполне достигали массы контрольных животных. В 2—3 года (т. е. в пожилом для крыс возрасте) по внешнему виду они напоминали контрольных животных 3-месячного возраста. Их ткани по ведущим биохимическим показателям были близки к аналогичным показателям молодых контрольных животных, они сохраняли способность к размножению, а продолжительность их жизни повышалась на 40, 50 и даже 100%.

В геропротекторном действии ограниченного питания ряд ученых усматривают как ведущую причину снижение частоты раковых и других, связанных с возрастом, болезней, а также глубокие сдвиги нейрогуморальной регуляции.

С учетом того, что процесс старения клетки сопровождается свободнорадикальными повреждениями (прежде всего в генетическом аппарате и биомембранах), становится оправданным поиск фармакологических средств prolongации жизни — геропротекторов — среди антиоксидантов. Впервые Харман показал (цит. по: [127]), что добавление в корм антиоксиданта бутилокситолуола удлиняет время жизни мышей в среднем на 45%, а цистеина и 2-меркаптоэтиламина — на 20—26%. По другим данным, добавление в пищу мышей фенольного антиоксиданта сантохина (этоксихина) также оказывает геропротекторное действие. Однако надо иметь в виду, что увеличение времени жизни животных на 25—26% еще не выходит за рамки максимальной ее продолжительности в оптимальных условиях. В этой связи заслуживают внимания данные [89] о замедлении процесса старения у мышей, получавших антиоксидант 2-этил-6-метил-3-оксипиридин (структурный аналог витамина B₆) начиная с 2-месячного возраста.

Максимальная продолжительность жизни увеличилась с 25.4 мес до 29 мес. В другой серии мыши начинали получать антиоксидант с 8-месячного возраста. Было установлено, что начиная с 14—15 мес смертность среди подопытных животных заметно снижается и максимальная продолжительность жизни в этой группе достигает 28 мес по сравнению с 18 мес в контроле. При этом, если у мышей в процессе естественного старения понижается антиоксидантная активность липидов печени, то при введении им антиоксиданта с 8-месячного возраста снижения данного показателя не наблюдалось.

Заслуживает внимания геропротекторное действие комбинированных препаратов, включающих комплекс ряда витаминов, аминокислот и минеральных веществ, совместные биологические эффекты которых значительно выше, чем при раздельном их применении. Тем самым предупреждается возможное неблагоприятное действие дисбаланса биологически активных веществ, наблюдаемого при старении организма. В качестве гериартрических препаратов успешно применяют декамевит, квадевит, ампевит и некоторые другие в виде двух-трех повторных курсов на протяжении года. Их эффективность связывают [49] с ослаблением возрастной хронической поливитаминовой недостаточности, активацией физиологических функций соединительной ткани, пополнением фонда биоантиоксидантов, активацией биосинтеза белков, ферментов и противокислителей, усилением иммунитета, адаптационных и компенсаторных процессов. Иллюстрацией могут служить данные о геропротекторных свойствах квадевита (геротона), одна таблетка которого включает витамины А, Е, С, В₁, В₂, РР, В₃, В₆, В₉, В₁₂, фитин, рутин, метионин, глутаминовую кислоту, сульфат меди и хлорид калия. Применение квадевита у белых крыс (два-три 3-недельных курса на протяжении 1 года из расчета 1 таблетка на 1 кг массы животного) задерживало развитие возрастных сдвигов, уменьшало частоту спонтанных опухолей, снижало смертность. При этом средняя продолжительность жизни (при 50% смертности особей) составила в контрольной группе 621 ± 29 дней, а в опытной — 688 ± 17 . Демонстративно также предупреждение квадевитом возрастных изменений активности специализированных систем биотрансформации ксенобиотиков. Так, если активность микросомальных ферментов белых крыс в возрасте 26—28 мес была примерно в 1,5 раза ниже по

сравнению с крысами в возрасте 6—8 мес, то у подопытных животных такого возрастного уменьшения активности ферментов не наблюдалось.

Подводя итоги рассмотрению проблем «старение — свободные радикалы» и «старение — антиоксиданты», надо отметить, что среди первичных универсальных механизмов старения определенную роль играет интенсификация свободнорадикальных реакций и повреждающее действие свободных радикалов на биоструктуры. Это может как ускорять процессы естественного старения, так и способствовать преждевременному старению и формированию таких болезней старения, как атеросклероз и рак. Большую роль здесь играет неблагоприятное воздействие многих факторов окружающей среды — общепризнанных источников свободных радикалов или их возможных предшественников: ионизирующей и ультрафиолетовой радиации, повышенного парциального давления кислорода, загрязненности атмосферного воздуха и пищи химическими канцерогенами, неправильного питания, гиподинамии, вредных привычек. Как можно было видеть из изложенного, «каскадный» механизм старения, связанный с повреждающим действием на организм свободных радикалов и продуктов ПОЛ, поддается в известных пределах коррекции. В связи с этим надо полагать, что среди геропротекторов все большее место будут занимать компоненты пищи и природные вещества, благоприятно влияющие на антиоксидантный статус человека.

Глава 11

ЯДЫ И АНТИОКСИДАНТЫ

Теперь практически невозможно представить ни один вид человеческой деятельности, который бы не был связан с неблагоприятным влиянием на организм тех или иных химических соединений. Вот почему значение средств профилактики и лечения интоксикаций непрерывно возрастает. В числе этих средств все более значимое место занимают антиоксиданты. В одной из наших ранних работ [1] была предпринята попытка сформулировать основные направления использования веществ, обладаю-

щих противooksислительными свойствами, для профилактики и лечения отравлений. Сейчас, спустя почти два десятилетия, можно с удовлетворением констатировать, что теоретические изыскания и многочисленные экспериментальные работы значительно продвинули вперед это направление современной токсикологии. Использование антиоксидантов в качестве противоядий стало теперь достоянием практики, причем интерес токсикологов, биохимиков, фармакологов к антидотным свойствам этих веществ не ослабевает. Реально значимыми сегодня следует считать ряд антиоксидантных препаратов, применяемых для целей профилактики и лечения как производственных, так и бытовых и лекарственных отравлений. И хотя мы еще не располагаем достаточными сведениями о молекулярных механизмах действия многих антиоксидантов, в настоящее время можно определенно говорить о нескольких перспективных возможностях антиоксидантного вмешательства в токсические процессы.

Так, известно, что многие ксенобиотики, подвергаясь в организме различным биохимическим превращениям, изменяют свою физиологическую активность. В одних случаях это приводит к ослаблению или полной утрате их токсичности, а в других, наоборот, характерное повреждающее действие на биоструктуры проявляется у ксенобиотиков после видоизменения их химического строения в организме. При этом биотрансформация может приводить к усилению ядовитости того или иного химического агента. В целом можно полагать, что чувствительность организма к воздействию яда всегда находится в зависимости от характера и интенсивности его биотрансформации. Для соединений, токсичность которых определяется целой молекулой, усиление процессов их превращения в организме будет способствовать детоксикации. И наоборот, когда метаболиты токсичнее исходных веществ, вредное действие последних будет меньше выражено, если процессы их биотрансформации понижены. Кроме того, надо иметь в виду, что появление токсичных веществ в организме часто сопровождается усилением активности и синтеза ферментных молекул, ускоряющих реакции их превращения. Поэтому, влияя с помощью определенных препаратов, в том числе антиоксидантов, на активность индуцированных ферментов, можно ускорить, изменить или затормозить эти реакции. Совершенно очевидно, что если, например, окисление ядовитого вещества в орга-

низме сопровождается образованием более токсичного соединения, противоокислительное влияние на этот процесс будет препятствовать развитию отравления. Тем самым вырисовывается возможность разработки причинных методов профилактики и лечения интоксикаций посредством применения противоокислительных веществ.

Окислительно-восстановительные реакции превращения многих ядовитых веществ осуществляются монооксигеназной системой со смешанной функцией, важнейшим компонентом которой является цитохром Р-450.

В связи с изложенным небезынтересно рассмотреть токсикологические особенности некоторых распространенных ядовитых веществ и оценить возможности антиоксидантного влияния на процессы их метаболизма с целью снижения или, что еще лучше, блокирования их отравляющего действия и охарактеризовать защитную роль противоокислительных веществ при некоторых интоксикациях.

Бензол

Бензол применяется как растворитель и разбавитель красок, лаков, смол, жиров, каучука. Он является исходным и промежуточным продуктом при органическом синтезе красителей, пластических масс, получении фенола и ряда лекарств. Отсюда и потенциальная опасность отравления человека бензолом. Бензол — высокотоксичное вещество. В основном он вызывает хронические отравления в результате поступления через легкие, кожу и слизистые оболочки небольших доз в течение длительного времени. При этом на фоне нервных нарушений доминируют выраженные изменения в системе крови, в основном в костномозговом кроветворении (резкое угнетение продукции лейкоцитов, тромбоцитов и эритроцитов, т. е. всех трех основных типов форменных элементов крови).

Бензол депонируется в основном в жировой ткани, костном мозге и крови, а также в печени и головном мозге. При этом в форменных элементах его содержится примерно в 2 раза больше, чем в плазме крови. От 30 до 75% бензола, проникшего в организм, выделяется в неизмененном виде с выдыхаемым воздухом и частично с мочой, а около 30% подвергается в организме превращениям. Все фенольные метаболиты бензола выводятся из организма

С мочой в основном в виде конъюгатов — эфиросерных соединений и глюкуронидов. Многие исследования показывают, что повреждающее действие бензола на систему крови обусловлено не им самим, а его токсичными метаболитами. При этом отравляющий эффект зависит как от скорости окисления молекул бензола в фенолы, так и от скорости, с какой последние подвергаются конъюгации. Предполагается, что если эти скорости равны, то бензол не оказывает токсического действия.

Накопление бензола в костном мозге и его повреждающее действие на костномозговое кроветворение побудило нас исследовать способность костного мозга и форменных элементов крови окислять бензол [32]. В модельных опытах с гомогенатами костного мозга, печени и лейкоцитарной взвесью было установлено, что костный мозг кролика обладает способностью окислять бензол, притом энергичнее, чем печень. Лейкоциты также активно окисляют бензол. На основании этих и ряда других дополнительных исследований мы пришли к заключению, что костный мозг является важным, может быть, основным местом окисления бензола в организме. Избирательность действия бензола на клетки крови, в первую очередь гранулоциты, вероятно, обусловлена наличием в них ферментной системы, окисляющей бензол в высокотоксичные метаболиты. Связано это с присутствием в их цитоплазме таких ферментов, как оксидаза, каталаза, пероксидаза, липаза, фосфатаза. Кроме того, нейтрофилы характеризуются высоким уровнем содержания липидов, и потому бензолные молекулы в силу высокой липидофильности избирательно фиксируются в этих клетках. Надо иметь в виду, что бензол обладает радиомиметическими свойствами, которые особенно отчетливо проявляются в изменениях картины крови и костномозгового кроветворения. По-видимому, такое сходство бензольной интоксикации с лучевой болезнью следует связать с функцией перекисных соединений в клетках крови, при помощи которых из бензола образуются токсичные метаболиты. Последние, в свою очередь, тормозят ферменты (пероксидазу, каталазу), разрушающие перекиси. Можно полагать, что накапливающиеся вследствие этого перекисные соединения оказывают на кровяные клетки эффект, подобный ионизирующей радиации, и, кроме того, способствуют свободнорадикальному окислению бензола.

Известно, что в регуляции интенсивности окислитель-

ных процессов важная роль принадлежит гормону щитовидной железы тиреодину. Поэтому вполне оправданно предположение, что функциональная активность этого органа должна влиять на интенсивность окисления бензола и, следовательно, на его отравляющее действие на кроветворение. В связи с этим нами было предпринято специальное исследование, которое показало, что если кроликам одновременно с ядом вводить тиреодин, то интенсивность метаболизма бензола в их организме значительно возрастает и существенно увеличивается его токсическое действие на костный мозг. С другой стороны, естественно предположить возможность ослабления токсичности бензола посредством направленного торможения его окислительных превращений с помощью антиоксидантов. Для исследования их способности вмешиваться в процессы биотрансформации бензола в нашей лаборатории были испытаны цистин, цистеин, метионин, цистеамин, аскорбиновая кислота, а также антиоксидант пропилгаллат.

Вначале изучалась интенсивность окисления бензола при добавлении антиоксидантов к ткани печени отравленных животных. Во второй серии опытов животных подвергали хроническому отравлению бензолом и одновременно вводили одно из названных серосодержащих соединений или аскорбиновую кислоту. Уровень биотрансформации оценивали по динамике выведения парных соединений (конъюгатов) с серной и глюкуроновой кислотами, а также по способности гепатоцитов (клеток печени) окислять бензол. Оказалось, что пропилгаллат и в особенности тиоловые аминокислоты резко тормозили окислительные реакции превращения бензола в печени. Затем было проведено специальное исследование на кроликах, которым ежедневно в течение 14 дней вводили бензол и одновременно различные антиоксиданты. Результаты этих опытов показали значительное снижение уровня фенольных метаболитов, выделяющихся из организма отравленных животных, если последние получали серосодержащие аминокислоты или аскорбиновую кислоту. При последующем исследовании ткани печени было установлено, что если кроликам давался метионин или аскорбиновая кислота, то количество окислившегося в печени яда уменьшилось примерно в 3 раза. Далее оказалось, что скармливание кроликам метионина совместно с ежедневными в течение 2 недель инъекциями бензола существенно тормозит падение числа лейкоцитов в крови. Так, к концу отравле-

ния у контрольных, т. е. не получавших метионин, отравленных животных среднее количество лейкоцитов составляло около 40% от исходного их уровня, в то время как у подопытных кроликов — 82%. Кроме того, метионин способствовал сохранению кровяных клеток в костном мозге в течение всего периода интоксикации, прежде всего тех, которые особенно повреждаются бензолом. Примерно аналогичные данные были нами получены в тех же условиях опыта при применении цистина и цистамина, а также витамина Е.

Торможение антиоксидантами окисления бензола наталкивает на мысль о причастности к этому процессу перекисных механизмов и свободнорадикальных реакций. В этой связи важно отметить, что фенольные метаболиты бензола угнетают пероксидазу и каталазу, т. е. ведущие ферменты, обеспечивающие разложение эндогенной перекиси водорода. Получается порочный круг: при помощи перекисных окислительных систем окисляется бензол, а токсичные продукты его превращения тормозят разрушение перекиси водорода. Ранее мы уже отмечали высокую биологическую активность перекиси водорода, в особенности ее роль в первичном механизме радиационного поражения биоструктур. Отсюда становятся более понятными наблюдаемые при бензольном отравлении радиомиметические эффекты.

Таким образом, испытанные антиоксиданты, во-первых, могут тормозить окисление яда и тем уменьшать концентрацию его фенольных метаболитов, во-вторых, следует учитывать связывание ими перекисных соединений, образующихся при бензольной интоксикации. Кроме того, вряд ли можно сомневаться, что они могут вмешиваться и в другие звенья токсического процесса.

Фосфорорганические соединения

Распространение фосфорорганических соединений (ФОС) обусловлено прежде всего повсеместным их использованием в качестве ядохимикатов. Возрастает и число ФОС, используемых в медицине с лечебной целью. Много этих веществ применяется в химической промышленности, в частности как исходные промежуточные продукты органического синтеза. По своему химическому строению ФОС представляют собою эфиры кислот пятивалентного фос-

фора (фосфорной, тиофосфорной, фосфоновой). Источником отравлений ФОС могут быть зараженная пища и вода, а также воздух, содержащий пары и аэрозоли этих ядов. У тяжело отравленного быстро появляется беспокойство, чувство страха, возбуждение, судороги на фоне приступов удушья (из-за спазма бронхов и обильного выделения секрета бронхиальных желез), расстройства сердечной деятельности, функции желудочно-кишечного тракта, зрения (резкое сужение зрачков, нарушение аккомодации). По существующим представлениям, основной механизм действия ФОС состоит в избирательном торможении ими фермента ацетилхолинэстеразы, или просто холинэстеразы, которая катализирует гидролиз ацетилхолина — передатчика (медиатора) возбуждения с нерва на клетки мышц, желез и других органов. После такого воздействия медиатор должен быть инактивирован, в противном случае будет нарушена дискретность в проведении нервного импульса и проявится избыточная и нецелесообразная функция холинорецептора, что и возникает, когда ФОС ингибируют холинэстеразу и ацетилхолин накапливается в синаптических структурах.

Установлено, что ряд распространенных ФОС начинают проявлять свое специфическое действие только после превращений в организме. При этом активация их молекул обычно связывается с реакциями ферментативного окисления. Так, инсектициды октаметил, хлорофос, карбофос и фосфамид свое характерное действие проявляют только после окислительных превращений в организме млекопитающих. Основываясь на предположении, что в подобных случаях антиоксиданты должны оказывать защитное действие, задерживая или блокируя превращение ФОС в более токсичные метаболиты, мы провели специальное исследование лечебных свойств цистина, метионина, α -токоферола, пиридоксина, никотиамида, витамина K_3 при экспериментальных острых и подострых отравлениях такими сильными ингибиторами холинэстеразы, как хлорофос, карбофос и фосфамид [2]. Результаты опытов не оставили сомнения в том, что названные антиоксиданты значительно ослабляют антихолинэстеразное действие ядов, препятствуют развитию симптомов интоксикации, увеличивают продолжительность жизни отравленных животных и снижают их летальность. В модельных опытах со срезами печени крыс, получавших рацион, обогащенный метионином и цистином, обнаружено торможение

активирования фосфамида. В другом исследовании [25] показано защитное действие аскорбиновой кислоты при отравлении животных рядом фосфоорганических инсектицидов. Это проявлялось, во-первых, торможением интоксикации, отдалением сроков гибели животных, отравленных смертельными дозами ядов, во-вторых, — ослаблением антихолинэстеразного действия ФОС и ускоренной нормализацией активности фермента.

Одним из распространенных ФОС является трикрезилфосфат (ТКФ) — сложный эфир фосфорной кислоты. Долгое время он использовался в качестве пластификатора при производстве нитролаков, искусственных кож, синтетических тканей. Но в последние десятилетия ТКФ стал широко применяться в турбостроении, реактивной авиации, космической и ракетной технике как необходимый компонент огнестойких жидкостей и масел. В связи с этим в соответствующих отраслях промышленности возрастает опасность профессиональных интоксикаций ТКФ, действие которого на нервную и мышечную системы приводит к развитию парезов и параличей. Недавно в одном из зарубежных журналов было описано [131] групповое отравление 44 учеников сапожников (возраст 7—18 лет) в результате применения клея, содержащего ТКФ. Полиневриты, заканчивающиеся в большинстве случаев вялыми параличами рук и ног, развились в среднем через несколько месяцев после начала обучения. Все пострадавшие работали в мелких мастерских, в которых отсутствовала вода для мытья рук, длительность рабочего дня составляла 12 ч. ТКФ мог попадать в организм через кожные покровы и с загрязненной пищей, так как ученики ели обычно на рабочем месте.

В организме ТКФ окисляется с образованием более ядовитых моноорто- и диортокрезилфосфатных метаболитов, обладающих выраженным прооксидантным действием. Поэтому в механизме влияния ТКФ на биоструктуры наряду с его антихолинэстеразным действием все большее значение токсикологи придают нарушениям липидного обмена и тесно связанному с ним обмену токоферола. Отсюда и стремление оценить терапевтическую значимость веществ антиоксидантного типа действия при отравлении ТКФ. Одно из обстоятельных исследований в данном направлении было предпринято в нашей лаборатории Л. А. Болтушкиной. Как показано автором [13], ТКФ вызывает у животных поражения, подобные состоянию

дефицита витамина Е. Поэтому были испытаны α -токоферол и некоторые другие антиоксиданты. Было показано, что под влиянием α -токоферола у мышей и цыплят, подвергнутых отравлению ТКФ, существенно задерживается развитие параличей конечностей, предупреждается атрофия мышц и развитие ряда признаков, характерных для картины Е-авитаминоза. В последующих опытах отравленных ТКФ морских свинок лечили селенитом натрия либо метионином или цистином. В первой серии опытов белым мышам однократно в желудок была введена смертельная доза ТКФ. Половине животных в течение 3 дней до отравления и 3 дней после него вводили селенит натрия (по 0.01 мг/кг массы тела). Все контрольные животные погибли в течение 4 дней, тогда как половина подопытных животных выжила. Следующая серия была поставлена на 54 морских свинках, которые, подобно цыплятам, очень чувствительны к ТКФ. 20 отравленных ТКФ животных ежедневно в течение 28 дней получали селенит натрия (по 0.01 мг/кг массы тела). У половины контрольных животных наступили тяжелые параличи задних конечностей, а у остальных наблюдалось развитие парезов. В то же время 9 подопытных морских свинок на протяжении этого периода оставались практически здоровыми, у 7 были зарегистрированы явления пареза и лишь у 4 наблюдались параличи. Наряду с ослаблением нейротоксического действия ТКФ под влиянием селенита предотвращались снижение перекисной резистентности эритроцитов и другие явления интоксикации, свойственные Е-авитаминозу, в частности предупреждалось развитие атрофии семенников и были отмечены лишь слабо выраженные дегенеративно-дистрофические изменения семеродного эпителия. Другие антиоксиданты (метионин и цистин) также оказывали лечебное действие, однако оно было слабее, чем у селенита.

Известно, что пиридоксин (витамин В₆) обладает определенными антиоксидантными свойствами, а то обстоятельство, что он способствует сохранению токоферола в организме, нормализует обмен серосодержащих аминокислот и играет важную роль в фосфолипидном обмене, в еще большей степени послужило основанием к его применению при ТКФ-интоксикации. Этим же автором [13] было показано, что профилактическое введение витамина В₆ задерживает отравляющее действие ТКФ на нервную систему у морских свинок. Только к концу 3-й недели после

введения яда у части животных были зарегистрированы начальные признаки интоксикации. В то же время у всех контрольных, т. е. нелеченных морских свинок, такие же дозы яда вызывали быстрое развитие характерных симптомов и гибель. Когда пиридоксин вводили на фоне уже развившейся интоксикации, то отчетливо тормозилось дальнейшее развитие атрофических изменений в мышцах и семенниках, восстанавливались нарушенные параличами функции конечностей.

Хорошо зарекомендовал себя при ТКФ-интоксикации и фитин — смесь кальциевых и магниевых солей инозитгексофосфорной кислоты. Фитин широко распространен в растительном мире. В организме он проявляет себя подобно инозиту — шестиатомному циклическому спирту ($C_6H_{12}O_6$) с витаминной активностью. Производные инозита, например фосфатидилинозиты, в относительно большом количестве содержатся в нервной ткани, сердечной мышце, органах внутренней секреции (щитовидной железе, гипофизе, половых железах). Входя, подобно другим фосфатидам, в структуру мембран митохондрий, микросом и других органелл, фосфатидилинозиты влияют на их избирательную проницаемость для различных веществ; кроме того, они играют важную роль в обмене липидов и проявляют липотропные свойства. Нас привлек также установленный ранее биохимический синергизм инозита и витамина Е, его витамин-Е-сберегающее действие, которое особенно проявляется при дефиците токоферола. Эксперименты показали, что защитные (как профилактическое, так и лечебное) свойства фитина проявлялись в еще большей степени, чем действие пиридоксина.

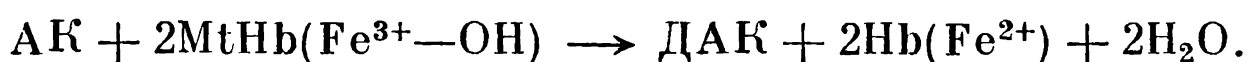
Таким образом, можно полагать, что эффект названных препаратов определяется в основном их противомокислительным влиянием на биотрансформацию яда и нормализующим действием на обмен фосфолипидов и витамина Е. Приведенные данные стали основанием для рекомендации этих эффективных средств для предупреждения и лечения отравлений ТКФ. С целью специфической профилактики интоксикаций нами было предложено дополнительно вводить витамины В₆ и Е, а также фитин и серосодержащие аминокислоты в рацион лиц, подвергающихся систематическому воздействию этого яда на производстве.

Известно много веществ, используемых в промышленности, сельском хозяйстве, в медицинской практике и встречающихся в быту, которые обладают способностью окислять атом железа молекулы гемоглобина и тем выключать его из процесса переноса кислорода. Превращение Fe^{2+} в Fe^{3+} лишает молекулу гемоглобина основного его свойства — обратимо связываться с кислородом, что приводит к развитию гипоксии и лежит в основе его перехода в новую форму — метгемоглобин (MtHb). В числе веществ-метгемоглобинообразователей — нитро- и аминсоединения, различные окислители.

В организме человека и животных постоянно происходит эндогенное окисление гемоглобина. Самым активным окислителем является кислород воздуха, который способен не только обратимо присоединяться к атомам Fe^{2+} , но и окислять их в Fe^{3+} . При окислении Hb в MtHb образуется супероксидный анион-радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Дисмутация его осуществляется с помощью супероксиддисмутазы, а образующаяся H_2O_2 разрушается каталазой и глутатионпероксидазой. Кроме кислорода, окислителями являются ряд продуктов нормального обмена веществ, в частности некоторые ферменты, например ксантиноксидаза. В числе многих эндогенных стимуляторов образования MtHb находятся перекисные соединения как естественные продукты обмена веществ. Неудивительно поэтому, что в физиологических условиях в крови может содержаться определенное количество (от 1 до 5%) MtHb . Небезынтересно в этой связи, что физиологический MtHb может выполнять роль антиоксиданта, когда он ускоряет разложение молекул эндогенной перекиси водорода на воду и кислород. Одновременно сам MtHb восстанавливается в Hb (или оксигемоглобин). Особенно возрастает эта функция при понижении активности каталазы, а также когда H_2O_2 накапливается в эритроцитах.

Поскольку в эритроцитах постоянно идет процесс окисления гемоглобина, то одновременно в организме существует система его восстановления. Восстановление MtHb — это главным образом результат деятельности специальных, связанных с НАД—НАД $\cdot$ H₂ ферментных систем, катализирующих окисление глюкозы в пептозофосфатном цикле. Но существует и неферментативное восстановление MtHb , когда главную роль в этом процессе иг-

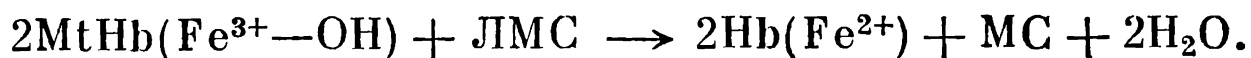
рают противooksислительные вещества, постоянно присутствующие в эритроците. В их числе аскорбиновая кислота (АК) и глутатион (G—SH), антиоксидантная роль которых по отношению к MtHb возрастает по мере накопления последнего в крови. В настоящее время эти биоантиоксиданты рассматриваются как «вторая линия защиты» против MtHb. Она срабатывает в основном при больших (10 и более процентов) концентрациях его в крови, когда уже развиваются признаки кислородной недостаточности. При этом АК превращается в дегидроаскорбиновую кислоту (ДАК). Не касаясь ряда сложных и дискуссионных сторон участия АК в восстановлении MtHb, такое ее действие можно представить в виде общей схемы:



Следовательно, в эритроцитах постоянно функционирует антиooksислительная система, которая непосредственно участвует в восстановлении MtHb и защищает от окисления нормальный гемоглобин. При этом, как свидетельствуют расчеты, ферменты восстанавливают 75—76%, АК — 12—16, G—SH — 9—12% MtHb. Теоретически можно предположить, что если образование MtHb является, как правило, результатом воздействия на кровь окисляющих веществ, то в числе противоядий на первом месте должны быть противooksислительные вещества.

Уже более полувека растворы глюкозы используются при лечении метгемоглобинемий. Глюкоза, окисляясь в организме, становится сильным восстановителем, в том числе и по отношению к гемоглобину.

Большее значение как противоядие при острых метгемоглобинемиях имеет метиленовый синий (МС). Считается, что главным промежуточным компонентом антиоксидантного действия МС на MtHb является кофермент НАДФ·Н₂, который восстанавливает его в так называемую лейкоформу (ЛМС). Ей-то и принадлежит способность активно восстанавливать MtHb по схеме:



Эффективным средством лечения острых токсических метгемоглобинемий является антидотный препарат хромосмон (1%-ный раствор МС на 25%-ном растворе глюкозы).

Современные представления о механизме токсического действия метгемоглобинообразователей позволяют вести

дальнейший поиск эффективных защитных и лечебных средств. К активным дегметгемоглобинизирующим веществам относится, как оказалось, ряд радиопротекторов, обладающих антиокислительными свойствами. Среди них, по данным М. С. Кушаковского [68], наиболее эффективными оказались цистамин и некоторые другие серосодержащие аминсоединения, в особенности селеноцистамин.

В экспериментально-терапевтических опытах, поставленных на различных животных, подвергнутых острому и подострому отравлению нитритом натрия и анилина, нами было установлено [4], что селенит натрия, α -токоферол, метионин, цистин, никотинамид и пиридоксин препятствуют образованию и накоплению MtHb в крови. Их благоприятный эффект проявляется также в ослаблении других признаков токсического действия анилина на эритроциты, в том числе был отмечен меньший прирост числа эритроцитов с тельцами Гейнца (появляются в результате окислительной денатурации гемоглобина) и предотвращение развития гемолитической анемии.

При рассмотрении возможных механизмов защитных свойств селена и ряда других антиоксидантов при отравлении метгемоглобинообразователями следует учитывать, что они могут тормозить свободнорадикальные процессы окисления гемоглобина (препятствовать образованию перекисных соединений, усиливать их распад), активизировать биологические механизмы восстановления MtHb, в том числе поддерживая фонд восстановленного глутатиона (влиять на процессы восстановления глутатиона, препятствовать его окислению), служить мембранопротекторами. Помимо непосредственной защиты кровяного пигмента и эритроцита в целом от окислительного разрушения, антиоксиданты, очевидно, могут проявлять благоприятное действие, вмешиваясь в биологическую судьбу отдельных метгемоглобинообразователей, изменяя интенсивность их окисления в монооксигеназной системе. В этом отношении анилин является удобным объектом для исследования влияния антиоксидантов на биотрансформацию чужеродных веществ.

Известно, что анилин *in vitro* сам по себе не окисляет гемоглобин, тогда как 1 моль анилина при введении животным окисляет от 20 до 200 эквивалентов гемоглобина. Анилин в организме подвергается ряду превращений. Первичным является гидроксилирование с образованием фенилгидроксиламина, а также пара- и ортоами-

нофенола. Фенилгидроксиламин относится к числу метгемоглобинообразователей. Он вступает с гемоглобином в присутствии кислорода в реакцию сочетанного окисления.

Влияние селенита натрия, цистампна и витамина Е на биотрансформацию анилина мы изучали в модельных опытах на срезах печени белых крыс. Об интенсивности окисления анилина и влиянии на этот процесс антиоксидантов судили по способности образовавшихся метаболитов окислять гемоглобин крови. Оказалось, что все исследованные антиоксиданты тормозят окислительное превращение анилина в активный метгемоглобинообразователь. При этом наиболее сильное влияние оказывает селенит натрия.

Выраженные деметгемоглобинизирующие свойства селенита и серосодержащих аминокислот, витамина В₆ и никотинамида наряду с тем, что они являются биотиками (т. е. участвуют в обмене веществ человека) и практически не токсичны даже при длительном (многолетнем) применении, позволяет нам рекомендовать их использовать в качестве защитных веществ. Их можно рассматривать как пищевые добавки. Продукты с богатым содержанием метионина, цистина и селена следует включать в рационы лечебно-профилактического питания лиц, подвергающихся систематическому воздействию метгемоглобинообразователей. Целесообразно также проводить 2—3 раза в год курсы дополнительной витаминизации пиридоксином или никотинамидом. Указанные витамины следует рекомендовать для применения в аварийных ситуациях и в тех случаях, когда можно ожидать воздействие больших доз метгемоглобинообразователей на организм.

Четыреххлористый углерод

Четыреххлористый углерод (CCl₄), или тетрахлорметан, широко применяется при изготовлении резины, лака, красок и как растворитель многих материалов. В токсикологической практике встречаются острые отравления, когда в состоянии алкогольного опьянения употребляют CCl₄ внутрь вместо спиртного напитка или воды, а также из-за вдыхания паров яда при небрежном обращении с ним и нарушениях правил техники безопасности на

производстве. CCl_4 — высокотоксичное вещество с избирательным повреждающим влиянием на клетки печени вплоть до развития в них жировой дистрофии и некроза (у человека тяжелые и смертельные отравления наблюдаются при приеме внутрь 10—30 мл CCl_4). Как и другие хлорированные углеводороды, CCl_4 вследствие своей высокой липидотропности после всасывания в кровь активно фиксируется в жировой ткани и легко растворяется во всех мембранных элементах гепатоцитов. При этом типичные повреждения наблюдаются в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме, что сказывается на активности многих внутриклеточных ферментов, снижает обезвреживающую функцию печени, приводит к обеднению ее гликогеном, нарушает процессы синтеза белка и биоэнергетику клетки. В литературе имеются указания о блокирующем действии CCl_4 на свободные SH-группы белков и ферментов печени. Отмечено, что CCl_4 нарушает структуру митохондрий, при этом в гепатоцитах снижается содержание свободных нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ). Внутриклеточные нарушения, вызываемые CCl_4 , сопровождаются резким увеличением проницаемости биомембран и выходом протеолитических и гидролитических ферментов из клеточных органелл в цитоплазму, что приводит к ферментативному «перевариванию» тканевых структур.

Установлено, что в печени человека трансформируется только 10—25% дозы яда, а остальная ее часть выводится в неизмененном виде. Это наводит на мысль о высокой биологической активности продуктов превращения CCl_4 . Такими веществами, как впервые было показано английским исследователем Рекнагелем и его сотрудниками, являются образующиеся из молекулы четыреххлористого углерода свободные радикалы, которые индуцируют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах гепатоцитов, что приводит к накоплению в них липидных перекисей. Вот уже почти 25 лет в литературе рассматривается простая схема превращения CCl_4 :



Следовательно, из одной молекулы CCl_4 образуются два свободных радикала. Первый этап этого процесса, протекающий по известной схеме, состоит во взаимодействии радикала $\text{CCl}_3^\cdot$ с ненасыщенной жирной кислотой

(НЖК), в результате чего образуется радикал НЖК[•] и химически инертная молекула хлороформа (CHCl₃). В дальнейшем радикал CCl₃[•] может повреждать метиленовые мостики НЖК, отнимая у них водород, и тем самым нарушать структуру биомембран. Такой «мембранный дефект» следует рассматривать как морфологическую основу сложной цепи патологических сдвигов, наблюдаемых при интоксикации CCl₄. Важным доказательством в пользу стимулирующего действия CCl₄ на процессы ПОЛ в мембранах гепатоцитов является резкое усиление образования в них таких промежуточных продуктов пероксидации, как малоновый диальдегид и диеновые конъюгаты. Обнаруженные в желчи кроликов уже через 30 мин после отравления CCl₄, они повреждали слизистую оболочку желчного пузыря животных. Как на одно из существенных доказательств правомерности разбираемого механизма токсического эффекта CCl₄ в литературе обращается внимание на выраженное прооксидантное действие CCl₄ на биоструктуры, которое проявлялось только тогда, когда к микросомам добавляли препарат, содержащий НАДФ·Н₂. Ю. А. Владимиров и А. И. Арчаков [23] полагают, что с участием данного кофермента происходит превращение молекул CCl₄ в свободные радикалы. В этой связи становится понятной высокая устойчивость печени новорожденных животных к CCl₄, так как у них еще не сформирована окислительная система НАДФ·Н₂—НАДФ в микросомах. Однако не исключается и непосредственное взаимодействие радикалов CCl₄ с функциональными группами мембранных макромолекул, прежде всего тиоловых ферментов, что может рассматриваться как второй механизм нарушения метаболизма клетки.

Необходимо также обратить внимание на особую роль цитохрома Р-450 в биотрансформации CCl₄.

Считается, что химически высокоактивный радикал CCl₃[•] образуется при комплексовании CCl₄ с цитохромом Р-450. Интересно, что препарат SKF-525А, который избирательно блокирует цитохром Р-450, тормозит превращение CCl₄ в микросомальных фракциях печеночных клеток. Это позволило успешно применить SKF-525А в качестве защитного средства при отравлении животных CCl₄. В то же время химические соединения, повышающие активность системы НАДФ·Н₂—НАДФ в процессах метаболизма чужеродных веществ и стимулирую-

щие синтез цитохрома Р-450 (например, фенobarбитал, ДДТ), одновременно резко усиливают отравляющий эффект CCl_4 .

В последние годы были получены данные, показывающие, что при отравлении CCl_4 уменьшается активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы — ферментов, ответственных за обмен глутатиона, которые, как отмечалось, участвуют в восстановлении гидроперекисей, образующихся из НЖК мембранных фосфолипидов, а также являются естественными регуляторами ПОЛ [37].

Изложенные представления о механизмах токсического действия четыреххлористого углерода дают основание полагать, что фармакологические вещества, подавляющие или по крайней мере препятствующие развитию свободнорадикальных процессов и ПОЛ, должны проявлять себя как защитные средства при отравлениях этим ядом. Таким эффектом обладает витамин Е, который оказался действенным прогивоядием при интоксикации CCl_4 . Если одновременно с CCl_4 ввести животным витаминный комплекс, включающий токоферол, аскорбиновую кислоту и витамин Р, то у них не наступает уменьшения активности ферментов обмена глутатиона. Когда же аскорбиновая кислота и витамин Р вводятся многократно на фоне длительного воздействия яда, то в печени животных постепенно нормализуется уровень адениловых нуклеотидов, в первую очередь АТФ [37]. Положительное действие α -токоферола на функцию печени подтверждают экспериментальные данные по его применению совместно с селенитом натрия при отравлении белых крыс CCl_4 [120]. Было показано также торможение свободнорадикального окисления липидов и стабилизация мембран гепатоцитов под влиянием селенита натрия и растительных полифенолов при остром отравлении крыс CCl_4 [84].

Весьма обстоятельно при интоксикации CCl_4 было изучено защитное действие α -токоферола во взаимосвязи с витаминным балансом организма. Авторы этого исследования [114] оценивали значение недостаточности водорастворимых витаминов (тиамина, рибофлавина, цианокобаламина) на фоне длительного воздействия CCl_4 (в течение 45 дней) при различном содержании токоферола в рационах питания животных. Полученные данные свидетельствуют также о том, что недостаток этих

витаминов в диете, несмотря на добавку токоферола, усугубляет токсическое действие CCl_4 . На этом основании авторы делают важный вывод о необходимости обеспечения лиц, работающих с четыреххлористым углеродом и другими гепатотропными ядами, рационом с полноценным комплексом витаминов в их оптимальной дозировке. Следовательно, защитный эффект биоантиоксиданта может при интоксикации проявиться только при достаточном поступлении в организм ряда других витаминов.

Акрилонитрил

Акрилонитрил (АН) — цианистое соединение, широко применяемое в органическом синтезе при производстве красителей, лекарств, пластмасс, синтетических волокон, каучука, а также как ядохимикат. Он лишь в 2 раза менее токсичен, чем синильная кислота. Описаны острые тяжелые и даже смертельные отравления людей, находившихся в помещениях, недостаточно проветренных после их обработки АН. Известны случаи профессиональных отравлений, когда появляются головная боль, недомогание, понижение аппетита, боли в области сердца, а также умеренная анемия, повышение уровня негемоглобинового железа в сыворотке крови вследствие повышенного распада эритроцитов. При этом типично нарастание явлений кислородного голодания, развитие симптомов поражения центральной нервной системы, дистрофических изменений в сердце и печени.

Около 80—85% АН в организме окисляется микросомальными оксидазами до более токсичного 2-цианоэтиленоксида, из которого в последующем образуется синильная кислота, а нециановая часть молекулы превращается в аммиак. АН и названные его метаболиты активно реагируют с сульфгидрильными соединениями, что снижает уровень последних в крови, печени, других органах и т.с., очевидно, активизирует процессы ПОЛ в мембранах эндоплазматического ретикулума, где осуществляется его биотрансформация. Так, было показано [52], что АН, снижая уровень внутриклеточных тиолов, интенсифицирует НАДФ·Н-зависимое ПОЛ в гепатоцитах. О том, что в механизме токсичности АН большое значение имеет блокирование сульфгидрильных соедине-

пий, а также нарушение ПОЛ и как следствие — мембраноповреждающее действие, свидетельствуют многие данные о защитном эффекте тиоловых соединений и других антиоксидантов. Так, в серии работ, выполненных в Институте питания АМН СССР под руководством Г. И. Бондарева [517], показано, что при остром отравлении белых крыс цистеин отчетливо проявляет как профилактическое, так и лечебное действие. Он выводит крыс из состояния тяжелой интоксикации и спасает от гибели всех животных. Одновременно было обнаружено, что цистеин примерно в 2 раза снижает количество роданидов¹, выводимых из организма животных. Это свидетельствует о меньшей циркуляции CN-ионов в крови отравленных животных и, следовательно, о торможении процессов превращения АН в синильную кислоту. При подостром ингаляционном отравлении крыс АН отчетливое профилактическое действие было также обнаружено у аскорбиновой кислоты, когда этим витамином обогащали рацион подопытных животных. Установлено также, что предварительное введение цистеина, α -токоферола или бутилокситолуола в дозах, блокирующих ПОЛ, защищает животных от токсического поражения печени, вызываемого АН. Это дает основание рекомендовать включение антиоксидантов в комплекс средств профилактики и терапии отравлений акрилонитрилом.

Кислород — токсический агент

В связи со все расширяющимся применением кислорода в различных сферах человеческой деятельности интерес к изучению его токсического действия не ослабевает. Авиация, космонавтика и альпинизм, освоение морских глубин, водолазное дело и кессонные работы непосредственно связаны с применением кислорода в условиях измененного барометрического давления в чистом виде или в смеси с воздухом и другими газами. Прогресс медицины в настоящее время в значительной степени зависит от использования кислорода прежде всего посредством *гипербарической оксигенации* (ГБО). Не потеряло

¹ Роданиды (роданистые соединения) образуются в печени в результате присоединения атомов серы к синильной кислоте под влиянием фермента роданазы. Таким образом происходит обезвреживание цианидов.

своего практического значения и издавна известное применение кислорода при нормальном барометрическом давлении для ликвидации явлений кислородной недостаточности при сердечно-сосудистых, легочных и других заболеваниях, а также при многих отравлениях. Все эти ситуации характеризуются той или иной степенью *гипероксии*, т. е. повышенного содержания кислорода в тканях. Сама по себе гипероксия не физиологична, она требует от организма серьезной перестройки регуляторно-координационных механизмов, ее трудно корригировать в соответствии с изменениями жизнедеятельности. Поэтому положительное действие гипероксии может перейти в нежелательное, в частности, из-за индивидуальной повышенной чувствительности к высокому содержанию кислорода в тканях даже при нормальном барометрическом давлении, когда избыточная концентрация кислорода в клетках создает опасность его токсического действия. Так, длительное вдыхание воздуха с повышенным парциальным давлением кислорода приводит к серьезным нарушениям работы многих органов и систем млекопитающих и даже может стать причиной гибели.

Следовательно, резистентность организма по отношению к кислороду имеет свои пределы, и прежде всего потому, что специальные механизмы, формирующие в нем противокислородную защиту, оказываются бессильными перед натиском избытка кислорода. Ряд исследователей у нас и за рубежом вообще подвергают сомнению безвредность окружающей атмосферы и в качестве доказательства приводят примеры токсичности обычных концентраций кислорода для некоторых видов животных и растений. Создается, таким образом, ситуация, при которой «все аэробные организмы зажаты в жесткие тиски. Тот самый кислород, который поддерживает их жизнь, токсичен для них, и их сопряженное с риском существование возможно благодаря хорошо отработанным механизмам защиты» ([119], с. 272). Этот биохимический парадокс заслуживает отдельного рассмотрения.

Многочисленные исследования показывают, что избыточное количество кислорода вызывает повреждение субклеточных, прежде всего мембранных, структур, снижает активность многих ферментов, в первую очередь содержащих SH-группы. Тем самым нарушается метаболизм тканей, особенно проницаемость биомембран и клеточное дыхание.

Длительное (многие часы, сутки) вдыхание кислородно-воздушных смесей, содержащих свыше 50% кислорода, на фоне поражения органов дыхания приводит даже при нормальном барометрическом давлении к нарушениям функций центральной нервной системы. Однако резкие патологические сдвиги в нервной системе, как правило, наблюдаются при давлениях кислорода, значительно превышающих атмосферное. Так, воздействие кислорода под давлением в две и более избыточные атмосферы в течение нескольких часов может вызвать у человека и животных острое отравление, сопровождающееся судорожными приступами.

Совершенно очевидно, что если супероксидный и гидроксильный радикалы, а также перекись водорода с неизбежностью сопутствуют нормально протекающим окислительно-восстановительным реакциям, то в условиях гипероксии, когда молекулы кислорода интенсивно «бомбардируют» ферменты и другие вещества в клетках, эти химически активные формы образуются с большей скоростью и в большем количестве. Особенно усиливается радикалообразование при воздействии на организм кислорода под повышенным давлением.

В 50—60-х годах американская исследовательница Гершман показала роль свободнорадикальных окислительных реакций в формировании многих структурных нарушений в клетке при гипероксии. Ею были установлены отчетливые кинетические закономерности концентрации свободных радикалов в печени, сердце, мозге, легких и мышцах экспериментальных животных, находившихся в атмосфере чистого кислорода при нормальном барометрическом давлении. Такого рода результаты неоднократно получали и отечественные исследователи в условиях воздействия кислорода в барокамере не только при нормальном и повышенном, но даже и при пониженном давлении. В последующем Гершман постулировала положение, согласно которому основной механизм кислородного отравления сходен с биологическим действием проникающей радиации.

Оценивая биохимическую сущность повреждающего действия кислорода на биоструктуры, надо иметь в виду одно очень важное обстоятельство: выраженной способностью присоединять кислород обладают многие ненасыщенные органические соединения с двойной или тройной связью, в первую очередь некоторые жирные кис-

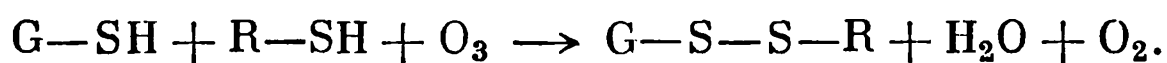
лоты, альдегиды, кетоны, фенолы. В связи с этим в настоящее время особое значение придается участию кислорода в реакциях переокисления липидов в биомембранах. Прежде чем проникнуть внутрь клетки, кислород благодаря своей хорошей растворимости в жирах проходит двойной липидный слой мембран. Образование в них свободных радикалов, запускающих цепную реакцию перекисного окисления, является источником повреждения (разрыхления) мембран. Напомним, что такого рода реакции постоянно протекают в клетках в условиях нормального их функционирования: они являются необходимым звеном сложного процесса самообновления мембран. Так как перекисные соединения более гидрофильны (водорастворимы), то они легче выделяются из мембран, а их сменяют новые, гидрофобные, молекулы липидов. Однако в условиях гипероксии, как, впрочем, и при ряде патологических состояний, интенсивность этих реакций чрезмерна, что в конечном итоге приводит к необратимому повреждению и даже разрушению липидного остова мембран.

В связи с изложенным целесообразно оценить и токсические свойства озона — аллотропного видоизменения кислорода. В отличие от двухатомной молекулы обычного кислорода молекула озона трехатомна (O_3). Озон — газ с резким запахом, обладает дезинфицирующим и бактерицидным действием. Он образуется в весьма больших количествах при сварочных работах, электролизе воды, в электротехнических лабораториях, рентгеновских кабинетах, используется в производстве перекиси водорода и некоторых органических продуктов (ванилина, камфоры, жирных кислот), для отбеливания бумаги, масел и т. д. Озон применяется также довольно широко для обеззараживания воды и для очистки и дезодорации воздуха. Озон теперь присутствует в атмосфере практически всех крупных городов мира, где образуется главным образом в результате фотохимических реакций. Он есть также в сельской местности, куда заносится с загрязненным воздухом из городов. Озон очень ядовит: например, его четырехчасовое воздействие в концентрации $4 \cdot 10^{-4}\%$ приводит к гибели 50% подопытных мышей. Такие болезненные явления, как головная боль, раздражение глаз, расстройство желудочно-кишечного тракта, ряд нарушений со стороны центральной нервной системы (повышенная раздражительность, снижение памяти, плохой

сон), а также вегетативные сдвиги (потливость, посинение конечностей, снижение артериального давления), могут возникать у человека при длительном воздействии озона уже в концентрации 10^{-5} %.

Исследователей давно интересовал молекулярный механизм развития озоновой интоксикации. В числе фактов, достаточно убедительно объясняющих действие озона на субклеточные структуры, в последнее десятилетие все большее значение придается его участию в реакциях ПОЛ как источника повреждений мембран. Один из вариантов взаимодействия озона с участием углеродной цепи НЖК, включающей двойную связь между атомами углерода, состоит в образовании аддукта — крайне непрочного соединения, которое самопроизвольно распадается на так называемый цвиттер-ион и альдегид. Эти промежуточные продукты, рекомбинируясь, образуют конечный продукт окисления — озонид.

Таким способом, как полагают, происходит внедрение молекулы озона в молекулу НЖК. Очень важно здесь отметить, что даже тех количеств озона, которые имеются в нормальном воздухе, достаточно для того, чтобы инициировать перекисное окисление НЖК в организме. Озоновая интоксикация сопровождается ингибированием SH-групп биомолекул. Например, содержание сульфгидрильных веществ в эритроцитах и тканях легких после вдыхания озона существенно снижается, причем наиболее окисляемым считается глутатион. Предполагается, что тормозящее влияние озона на каталитические свойства ферментов, содержащих SH-группы в активных центрах, состоит в образовании смешанных дисульфидов между глутатионом ($G-SH$) и SH-группами белковых молекул клеточных мембран по схеме:



В связи с этим отметим, что окисление сульфгидрильных групп мембранных белков может быть инициирующей стадией ПОЛ, так как эти белки распределены (или, как сейчас принято говорить, встроены) среди липидов мембран. Любопытно, что в легких некоторых животных обнаружен фермент (дисульфидредуктаза), специфические функции которого заключаются в поддержании белковых SH-групп в восстановленном состоянии.

Здесь целесообразно также указать на токсические свойства перекиси водорода. Наиболее ярко они прояв-

ляются при содержании организма в гипероксической среде, когда на фоне ускоренного образования других интермедиатов кислорода в митохондриях и пероксисомах клеток усиливается генерация перекиси водорода. В частности, в условиях ГБО концентрация H_2O_2 в клетках печени возрастает до 200%.

В условиях дополнительного поступления кислорода в ткани одним из способов усиления противоокислительной защиты является введение в организм веществ, обладающих Е-витаминной активностью. Особенно, конечно, целесообразно это делать для предотвращения кислородной интоксикации при лечебном применении ГБО. Такое применение витамина Е нашло экспериментальное обоснование более 20 лет назад, т. е. еще при становлении этого метода использования кислорода в медицинской практике. В дальнейшем удалось доказать, что добавление токоферола в рацион животных, находившихся в гипероксической среде, существенно снижает количество продуктов липопероксидации в тканях и нормализует нарушенный жирнокислотный состав липидов.

Нечто подобное наблюдается и в условиях длительного воздействия на организм токсических концентраций озона. При этом исследователи обратили внимание на примечательный факт: патологоанатомические изменения в легких животных при их содержании в атмосфере озона сходны с теми, которые наблюдаются в обычной воздушной среде, но в условиях Е-витаминной недостаточности. Одновременно было зафиксировано, что на фоне Е-авитаминоза при озоновом отравлении особенно быстро развиваются молекулярные повреждения в тканях, ведущие к отеку легких. Если же добавляли токоферол к рациону животных, содержащихся в атмосфере со смертельной концентрацией озона, то наблюдалась задержка развития отека легких, и сроки жизни отравленных животных возрастали более чем в 2 раза. В последнее время в литературе подчеркивается, что при озоновом отравлении токоферолу принадлежит решающая роль в обезвреживании липидных перекисей. По-видимому, при этом он усиливает также действие ферментов, активирующих другие биоантиоксиданты. В частности, это касается глутатионредуктазы. Тем самым токоферол способствует стабилизации SH-групп молекул глутатиона, а значит — наращиванию его противоокислительного потенциала.

Проблема химической защиты от токсического действия кислорода разрабатывается несколькими путями, выбор которых базируется в основном на существующих представлениях о молекулярных механизмах этого явления. Здесь мы не будем останавливаться на лекарственных препаратах неантиоксидантного типа действия, специально изученных и предложенных для профилактики и лечения кислородной интоксикации. Отметим лишь, что арсенал этих фармакологических средств достаточно широк — от воздействующих на функции различных звеньев центральной нервной системы и эндокринных желез до изменяющих терморегуляцию и кислотно-щелочное равновесие организма. Все они главным своим назначением имеют предупреждение и купирование основного синдрома острого кислородного отравления — судорожных приступов. Относительная общность механизма повреждающего действия гипероксии и ионизирующей радиации явилась основанием для широких испытаний в качестве защитных средств различных противолучевых препаратов, о которых уже шла речь в гл. 6.

Среди многочисленных радиопротекторов, изученных с целью предупреждения и ослабления токсического действия кислорода, наибольший интерес представляют аминотиоловые соединения. В их числе в первую очередь надо назвать цистеин и его производные — соединения β -меркаптоэтиламина, этирон и некоторые другие изотиурониевые соединения. В ряде работ было показано отчетливо выраженное их свойство препятствовать развитию многих патологических сдвигов в организме в условиях гипероксии, и защищать животных от токсического действия кислорода. При этом имеется определенный параллелизм между профилактическим действием ряда названных веществ при гипероксии и их противолучевой активностью [43]. Характерна их способность отодвигать срок развития таких грозных проявлений кислородного отравления, как судорожный синдром.

Как свидетельствуют литературные данные, при избыточном давлении кислорода в дыхательной среде в той или иной мере предохраняющее действие оказывают на организм животных синтетические антиоксиданты (тиомочевина, пропилгаллат, нордигидрогваяретовая кислота). Предварительное их введение в небольших нетоксических концентрациях повышало антиокислительную активность тканей животных. Определенную степень

противогипероксического действия проявляют также производные имидазола и индола: 5-метокситриптами́н (мекс-амин), серотонин, 2-аминбензимидазол. С помощью этих веществ удавалось защищать лабораторных животных, находившихся в барокамере под давлением чистого кислорода в 5 атм в течение времени, достаточного для их гибели в контрольных экспериментах.

В нашей лаборатории было исследовано защитное действие пиридоксина (витамина В₆) при гипероксии. Поводом для этого послужили известные из биохимии сведения о его участии в различных обменных процессах. С одной стороны, пиридоксин играет большую роль в биотрансформации серосодержащих соединений (метионина, цистеина), в синтезе глутатиона и его превращениях, в переносе SH-групп биомолекул, т. е. его функция в организме тесно связана с метаболизмом биоантиоксидантов, а с другой, — сам он обладает свойствами антиоксиданта, активно участвуя в обмене липидов, в особенности ненасыщенных жирных кислот и липопротеидов. Опыты ставились на белых мышах и крысах, которых через 30 мин после введения пиридоксина подвергали кислородной компрессии под давлением 4—5 атм в барокамере в течение 40—60 мин. Под влиянием пиридоксина увеличивался латентный (скрытый) период развития кислородных судорог: у мышей в 3 раза, у крыс в 1.5 раза. Самое же существенное — это то, что пиридоксин предотвращал гибель около одной трети подопытных животных, тогда как почти все контрольные животные погибали. Аналогичным образом нами, далее, была исследована противогипероксическая эффективность фитина. Оказалось, что в описанных условиях опыта фитин отчетливо увеличивал латентный период наступления кислородных судорог. С учетом изложенного было предложено применять фитин для профилактики острого отравления кислородом под давлением в водолазной и кессонной практике [3].

* * *

Современный человек вольно или невольно подвергается мощной атаке различных по своей химической природе чужеродных для организма веществ. Конечно, человек не беззащитен перед ксенобиотиками. Существуют физиологические системы, оберегающие наш орга-

низм от влияний химических факторов внешней среды. Это главным образом органы выделения (легкие, почки, кожа), многоступенчатая система биохимического превращения гидрофобных соединений в водорастворимые, легковыводимые почками, и, наконец, иммунная система, включающая связывание чужеродных веществ и обезвреживание в реакции антиген—антитело. Однако возможности этих механизмов защиты не безграничны. Свидетельством загрязнения внутренней среды человека является рост аллергических и раковых заболеваний. Есть основания полагать, что увеличение частоты ряда хронических заболеваний неинфекционной природы (атеросклероз, ИБС, неспецифические заболевания органов дыхания), причисленных к так называемым болезням цивилизации и занимающих ведущее место среди причин смертности в промышленно развитых странах, можно также связать с неблагоприятным действием ксенобиотиков.

Из приведенных в этой главе и других разделах примеров следует, что нарушения регуляции СРО играют важную роль в происхождении, течении и исходе многих интоксикаций, а продукты ПОЛ являются универсальными клеточными и субклеточными ядами. С точки зрения понимания механизмов инициации СРО липидов прежде всего можно выделить группу токсических веществ, вызывающих повышенное поступление активных форм кислорода и свободных радикалов. Это может происходить в результате загрязнения окружающей среды окислами азота, озоном, сернистым газом, продуктами фотоокисления ряда углеводородов, табачным дымом. Далее следует отметить фотохимические реакции, вызываемые сенсibilизаторами фотохимических процессов, например порфиринами, хинонами. Иницировать и катализировать процессы ПОЛ биомембран могут гемолитические яды, вызывающие накопление в крови и тканях гемового и негемового железа. К ним относятся соединения мышьяка и свинца. Резкое увеличение ПОЛ вызывает так называемые хаотропные вещества, нарушающие упорядоченную структуру липидного слоя мембран. В их число входят детергенты и поверхностно-активные вещества. Следует указать также, что свободнорадикальные формы образуются при превращении многих токсических веществ в организме, например четыреххлористого углерода, бензпирена, бензола, алкилирующих соедине-

ний и др. Наконец, многие из упомянутых веществ и еще целый ряд других активизируют процессы ПОЛ липидов, проявляют мембранотоксическое действие, прямо или косвенно вызывая явления антиоксидантной недостаточности. К ним относятся, например, тиоловые яды, связывающие SH-группы белков и низкомолекулярных соединений. В заключение можно отметить, что чем бы ни был вызван процесс активации ПОЛ, далее разворачивается достаточно типичная цепь событий, приводящая к развитию симптомокомплекса неспецифического патологического процесса, который протекает обязательно на фоне снижения активности антиокислительной системы.

Активное использование в течение последних 25 лет новых физических и химических методов в биологии и медицине способствовало развитию представлений о роли свободнорадикального окисления (СРО) липидов и физиологической антиокислительной системы (АОС) в жизнедеятельности здорового и больного человека. В настоящее время общепризнано, что чрезмерное перекисное окисление липидов (ПОЛ) нарушает структурно-функциональную организацию биомембран и является одним из ведущих универсальных механизмов повреждения клетки. Доказано и то, что при действии на организм человека различных экологических неблагоприятных факторов химической, физической и биологической природы, стрессорных ситуаций повышаются процессы СРО. В силу цепного лавинообразного характера ПОЛ при нарушении контроля над этим процессом имеет место эффект многократного усиления первичного повреждающего воздействия. Отсюда очевидна роль мобилизации резервов физиологической АОС в защитно-приспособительных реакциях, в молекулярных механизмах неспецифической резистентности (адаптации) клетки и организма в целом к действию болезнетворных факторов. Соотношение интенсивности СРО и антиокислительной активности определяет так называемый антиоксидантный статус клетки, тканей, всего организма. Истощение и срыв различных звеньев АОС, приводящие к неконтролируемому СРО, во многом определяют характер и интенсивность возникновения и развития того или иного патологического процесса. То, как быстро наступит нарушение механизмов антиоксидантной защиты, зависит,

с одной стороны, от силы и продолжительности действия болезнетворного фактора, инициирующего СРО, с другой — от состояния АОС, ее резервов. На функционирование АОС влияют также структура питания, физическая активность, сезонные факторы, возраст, наличие тех или иных заболеваний и др.

. Вскрытие молекулярных механизмов повреждения и неспецифического компонента многих патофизиологических процессов научно обосновывает применение противоокислительных веществ в комплексе средств повышения защитно-приспособительных реакций организма к экстремальным воздействиям и в качестве лекарственных средств при целом ряде заболеваний. При рассмотрении показаний к применению антиоксидантов для профилактики преждевременного старения следует напомнить о сходстве многих биохимических и морфологических признаков антиоксидантной недостаточности и старости, о том, что явления атеросклероза у животных можно воспроизвести при низком содержании в их пищевом рационе биоантиоксидантов, и о защитном действии витаминов Е, С и Р и серосодержащих аминокислот. Необходимо упомянуть и о том, что свободные радикалы и ПОЛ участвуют во многих патологических процессах, распространенных среди злостных курильщиков и хронических алкоголиков.

С точки зрения профилактики антиоксидантной недостаточности и рационального применения противоокислительных веществ целесообразно обобщить сведения о *факторах риска антиоксидантной недостаточности*. Их можно сгруппировать следующим образом.

I. Алиментарная недостаточность. К ней ведут: 1) низкое содержание биоантиоксидантов в пищевом рационе из-за недостаточного разнообразия повседневного питания, узкого ассортимента продуктов, недостаточного потребления натуральных продуктов, свежих овощей, ягод, плодов, а также в результате их разрушения (особенно витаминов С и А, серосодержащих аминокислот) при нарушении режимов хранения и технологической обработки продуктов; 2) наличие в продуктах питания непищевых природных и чужеродных веществ, инициирующих процессы ПОЛ или нарушающих функцию ферментных и неферментных звеньев физиологической АОС, как то: нитриты, нитраты, перекисные и другие продукты окисления жиров, ядохимикаты, соединения свинца,

ртути, кадмия и др.; 3) несоблюдение принципов рационального питания с учетом образа жизни человека, несбалансированность химического состава пищевого рациона, приводящая к нарушению оптимальных соотношений между биоантиоксидантами и пищевыми веществами, прямо или косвенно оказывающими прооксидантный эффект (избыточно калорийное питание, чрезмерное потребление жиров, особенно рафинированного растительного масла, продуктов, богатых холестерином, витаминами А и D и др.).

II. Повышенная потребность в биоантиоксидантах. Ее вызывают: 1) неблагоприятные климатические условия проживания; 2) особые профессиональные условия труда (психоэмоциональные перегрузки и другие стрессорные ситуации, работа в экстремальных условиях, воздействия ионизирующей радиации, токсических веществ, недостатка или избытка кислорода и других вредных факторов); 3) особые физиологические состояния организма (интенсивный рост, беременность, лактация, преждевременное старение); 4) интенсивная физическая нагрузка и недостаточная физическая активность (гипокинезия); 5) стрессорные состояния; 6) инфекционные заболевания; 7) неинфекционные заболевания, в происхождении и развитии которых установлено повышение процессов ПОЛ (воспаление легких, бронхиальная астма, пневмокониозы, атеросклероз, холестериноз, ИБС, нейротоксикозы); 8) острые и хронические бытовые и производственные интоксикации; 9) вредные привычки: курение, хронический алкоголизм; 10) лечение лекарствами, механизм побочного действия которых связан с усилением процессов ПОЛ, а также с нарушением всасывания биоантиоксидантов в желудочно-кишечном тракте и последующей их утилизации.

В настоящее время имеется довольно много свидетельств эффективности использования антиоксидантов.

Мы надеемся, что сделанная в книге попытка отразить современное состояние проблемы «Человек, свободные радикалы и противокислительные вещества» привлечет к ней внимание различных специалистов и явится толчком для дальнейших перспективных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абрамова Ж. И.* Об использовании природных антиоксидантов для профилактики и лечения отравлений ядами различного типа действия. — В кн.: Общие вопросы промышленной токсикологии. М.: НИИ гигиены труда и проф. заболеваний, 1967, с. 146—149.
2. *Абрамова Ж. И., Болтушкина Л. А., Миролубов Н. Г.* Пути повышения эффективности лечебно-профилактического питания работающих с фосфорорганическими пестицидами. — В кн.: Вопросы лечения профессиональных заболеваний и интоксикаций / Под ред. Л. Н. Грацианской, М. А. Элькина. Л.: НИИ гигиены труда и проф. заболеваний, 1967, с. 112—113.
3. *Абрамова Ж. И., Гланц Б. Р.* Средство для профилактики острого отравления кислородом под давлением. А. с. 336020 (СССР). Заявл. 28.01.72. Опубл. 25.04.72. — Б. И., 1972, № 14.
4. *Абрамова Ж. И., Марцинкевич Г. А.* Экспериментальная терапия токсических метгемоглобинемий. — В кн.: Вопросы диагностики, специфической профилактики и терапии профессиональных заболеваний / Под ред. Ж. И. Абрамовой. Л.: НИИ гигиены труда и проф. заболеваний, 1970, с. 101—119.
5. *Аграновский М. З.* Лечебно-профилактическое действие липоевой кислоты и ее амида при токсической метгемоглобинемии. — В кн.: Материалы 28-й отчетной науч. конф. аспирантов и клинических ординаторов ЛСГМИ. Л., 1968, с. 6—7.
6. *Ажица Я. И.* Медико-биологические аспекты применения метода электронного парамагнитного резонанса. М.: Наука, 1983. 527 с.
7. *Афанасьев В. А., Заиков Г. Е.* Физические методы в химии. М.: Наука, 1984. 174 с.
8. *Бадалян Л. О., Ильчук И. Т., Берестов А. И.* Состояние перекисного окисления липидов при инфекционно-токсическом поражении нервной системы у детей. — Педиатрия, 1983, № 12, с. 23—29.
9. *Барабой В. А.* Растительные фенолы и здоровье человека. М.: Наука, 1984. 160 с.
10. *Бергельсон Л. Д.* Мембраны, молекулы, клетки. М.: Наука, 1982. 183 с.
11. *Беюл Е. А., Оленева В. А., Мюр М.* Некоторые вопросы эпидемиологии ожирения. — Вопр. питания, 1980, № 2, с. 17—20.

12. *Бирюков В. С.* Антиоксиданты — универсальный компонент медикаментозного лечения токсических состояний различной этиологии. — Мед. реф. журн., 1984, разд. V, № 3, реф. № 584, с. 4.
13. *Болтушкина Л. А.* О патогенетической терапии и профилактике интоксикации триортокрезилфосфатом. — В кн.: Вопросы лечения профессиональных заболеваний и интоксикаций / Под ред. Л. Н. Грацианской, М. А. Элькина. Л.: НИИ гигиены труда и проф. заболеваний, 1967, с. 123—134.
14. *Бородин А. Б., Вережагин В. М.* Состояние мембраны эритроцитов у детей, больных острой пневмонией. — Вопр. охраны материнства и детства, 1984, № 7, с. 29—34.
15. *Бургасов П. М.* Итоги и перспективы. — Мед. газ., 1981, 15 нояб., № 92 (4433).
16. *Бурлакова Е. Б.* Биоантиоксиданты и синтетические ингибиторы радикальных процессов. — Успехи химии, 1975а, т. 14, № 10, с. 1871—1886.
17. *Бурлакова Е. Б.* Изменение антиокислительной активности липидов при лучевой болезни и радиозащитное действие антиоксидантов. — В кн.: Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975б, с. 61—89.
18. *Бурлакова Е. Б.* Молекулярные механизмы действия антиоксидантов при лечении сердечно-сосудистых заболеваний. — Кардиология, 1980, № 8, с. 48—52.
19. *Вальдман А. Р.* Витамины в животноводстве. Рига: Зинатне, 1977. 352 с.
20. *Величковский Б. Т., Кацнельсон Б. А.* Этиология и патогенез силикоза. М.: Медицина, 1964. 179 с.
21. *Владимиров В. Г., Смирнова С. М., Тарнопольская Л. Г.* Тиофосфорные соединения как радиопротекторы. — Воен.-мед. журн., 1976, № 11, с. 86—88.
22. *Владимиров Ю. А.* Холестерин и физические свойства липидного бислоя мембран. — В кн.: Холестериноз. М.: Медицина, 1984, с. 41—82.
23. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
24. *Вопросы сердечно-сосудистой патологии в клинике профессиональных болезней.* Л.: НИИ гигиены труда и проф. заболеваний, 1969. 134 с.
25. *Воробьева М., Рубенчик Б. Л., Карпиловская Е. Д.* Антиоксическая роль витаминов. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 99—101.
26. *Воскресенский О. Н.* Витамины-антиоксиданты и системность биологического ингибирования перекисного окисления липидов и биополимеров. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 6—9.
27. *Воскресенский О. Н., Бобырев В. Н.* Влияние аскорбиновой кислоты и рутина на развитие экспериментального перекисного атеросклероза. — Фармакология и токсикология, 1979, № 4, с. 378—382.
28. *Воскресенский О. Н., Девяткина Т. Д.* Алиментарные факторы в генезе атеросклероза. — Вопр. питания, 1978, № 6, с. 30—35.
29. *Воскресенский О. Н., Жутаев И. А., Бобырев В. Н., Безуг-*

- мый Ю. В. Антиоксидантная система, онтогенез и старение. — *Вопр. мед. химии*, 1982, т. 28, вып. 1, с. 14—27.
30. *Воскресенский О. Н., Туманов В. А.* Ангиопротекторы. Киев: Здоров'я, 1982. 119 с.
31. *Вышеславова М. Я.* О канцерогенном действии перегретых жиров. — *Вопр. питания*, 1968, № 3, с. 63—68.
32. *Гадаскина И. Д., Абрамова Ж. И., Вихерская Т. П.* Участие костного мозга в окислении бензола. — *Гигиена труда и проф. заболевания*, 1965, № 12, с. 3—7.
33. *Гигиена питания* / Под ред. К. С. Петровского. М.: Медицина, 1971, т. 1. 512 с.
34. *Гинтер Э.* Роль аскорбиновой кислоты в метаболизме холестерина. — *Вопр. питания*, 1972, № 6, с. 25—32.
35. *Гончаренко Е. Н., Кудряшов Ю. Б.* Гипотеза эндогенного фона радиорезистентности. М.: Изд-во МГУ, 1980. 176 с.
36. *Горгошидзе М. Л., Мергеладзе И. М.* Динамика антиокислительной активности крови в зависимости от изменения электрокардиограммы и характера течения острого инфаркта миокарда. — *Кардиология*, 1981, № 6, с. 48—51.
37. *Губский Ю. И., Сильченко Н. А., Селезнева А. К.* Роль антиоксидантных витаминов в ограничении токсикозов. — В кн.: *Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии*. М.: Наука, 1981, с. 104—106.
38. *Гусев В. А., Панченко Л. Ф.* Супероксидный радикал и супероксиддисмутаза в свободнорадикальной теории старения. — *Вопр. мед. химии*, 1982, № 6, с. 8—23.
39. *Дельва В. А., Весельский И. Ш., Гуркина К. И.* Окислительно-восстановительные характеристики ишемической болезни мозга. — В кн.: *Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии*. М.: Наука, 1981, с. 78—81.
40. *Дудченко М. А., Третьяк Г. Д., Казаков Ю. М.* Применение антиоксидантов при атеросклерозе и ишемической болезни сердца. — В кн.: *Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии*. М.: Наука, 1981, с. 87—91.
41. *Еремина Г. В., Доев А. И.* Влияние различных концентраций ретинола на перекисное окисление в липосомах. — В кн.: *Актуальные проблемы витаминологии*. М., 1978, т. 1, с. 60—61.
42. *Ермаков В. В., Ковальский В. В.* Биологическое значение селена. М.: Наука, 1974. 298 с.
43. *Жиронкин А. Г.* Кислород: Физиологическое и токсическое действие. Л.: Наука, 1972. 172 с.
44. *Жихарев С. С.* Субклеточные механизмы в регуляции проходимости бронхов. — В кн.: *Физиологические и патофизиологические механизмы проходимости бронхов*. Л.: Наука, 1984, с. 180—210.
45. *Жихарев С. С., Субботина Т. Ф., Петрова М. А.* Снижение уровня церулоплазмينا в сыворотке крови — показатель атопии при бронхиальной астме. — *Терапевт. арх.*, 1984, № 3, с. 23—26.
46. *Журавлев А. И.* Антиокислители. — В кн.: *БМЭ*. 3-е изд., 1975а, т. 2, с. 33—35.
47. *Журавлев А. И.* Биоантиокислители в животном организме. — В кн.: *Биоантиокислители*. М.: Наука, 1975б, с. 19—30.

48. Журавлев А. И. Развитие идей Б. Н. Тарусова о роли ценных процессов в биологии. — В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982, с. 3—37.
49. Западнюк В. И. Лекарственные средства, ослабляющие явления преждевременного старения. — Вестн. АМН СССР, 1984, № 3, с. 65—70.
50. Заридзе Д. Г. Роль питания в профилактике рака. — Вестн. АМН СССР, 1984, № 5, с. 60—65.
51. Землянская Т. А., Виссарионова В. Я., Бондарев Г. И. О влиянии аскорбиновой кислоты и некоторых витаминов группы В на течение подострой интоксикации нитрилом акриловой кислоты у крыс. — Вопр. питания, 1976, № 4, с. 56—69.
52. Иванов В. В., Климацкая А. Г. Использование антиоксидантов для предупреждения гепатотоксического эффекта акрилонитрила. — Фармакология и токсикология, 1984, № 5, с. 96—99.
53. Иванов И. И., Мерзляк М. Н., Тарусов Б. Н. Витамин Е, биологическая роль в связи с антиоксидантными свойствами. — В кн.: Биоантиокислители. М.: Наука, 1975, с. 30—52.
54. Каган В. Е., Меерсон Ф. З. Разрушение мембран кардиомиоцитов при ишемии. — В кн.: Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984, с. 122—135.
55. Калмыкова В. И. Перекиси липидов и антиоксиданты в патогенезе и терапии атеросклероза: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1978. 49 с.
56. Калмыкова В. И. Витамины-антиоксиданты в патогенезе и терапии атеросклероза и ишемической болезни сердца. — В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982, с. 181—194.
57. Калмыкова В. И., Дмитриевский А. А., Газдаров А. К. Новые методы и направления исследований витаминов-антиоксидантов. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 43—45.
58. Карнаух И. М., Урысон Б. В. Установки для измерения спонтанного сверхслабого свечения биологических и клинических объектов и вопросы метрологического обеспечения измерений. — В кн.: Биохемилюминисценция / Под ред. А. И. Журавлева. М.: Наука, 1983, с. 118—134.
59. Касакина О. Т., Гагарина А. Б. Витамин А и β -каротин как акцепторы свободных радикалов. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 13—18.
60. Касакина О. Т., Гагарина А. Б., Иванов Ю. А., Розанцев Э. Г., Эмануэль И. М. Торможение процесса окисления β -каротина соединениями ряда гидрированного хинолина. — Изв. АН СССР. Сер. хим., 1975, т. 2, с. 2247—2250.
61. Ковалев И. Е., Маленков А. Г. Поток чужеродных веществ: влияние на человечество. — Природа, 1980, № 9, с. 90—101.
62. Козлов Э. И., Иванова Р. А., Богословский Н. А., Дубур Г. Я., Улдриск Я. Р., Тирзит Г. Д., Абрамова Ж. И., Яковлев В. А., Гиллер С. А. Способ стабилизации органических веществ. А. с. 582263 (СССР). Заявл. 8.08.77. Опубл. 30.09.77. — Б. И., 1977, № 44.

63. *Козлов Ю. П.* Свободные радикалы и их роль в нормальных и патологических процессах. — М.: Изд-во МГУ, 1973. 174 с.
64. *Коровкин Б. Ф.* Проблемы современной энзимодиагностики. — Вестн. АМН СССР, 1985, № 1, с. 12—22.
65. *Кудрин А. Н., Коган А. Х., Королев В. В., Николаев С. М., Бескровнова Н. Н.* Свободнорадикальное окисление липидов в патогенезе инфаркта миокарда и лечебно-профилактическая роль антиоксидантов — селенита натрия и его комбинации с витамином Е. — Кардиология, 1978, № 2, с. 115—118.
66. *Кузин М. И.* Свободнорадикальные процессы при раке желудка. — В кн.: Свободнорадикальные состояния и их роль в процессах лучевого поражения и злокачественного роста. М.: Наука, 1971. 252 с.
67. *Кузьминская Г. Н.* Экспериментальное исследование влияния промышленных ядов (свинца и фтора) на развитие атеросклероза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Л., 1968. 19 с.
68. *Кушаковский М. С.* Клинические формы повреждения гемоглобина. Л.: Медицина, 1968. 325 с.
69. *Кхандуджа К. Л.* Изменение метаболизма 7,12-диметилбенз(а)-антрацена под влиянием витамина А. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1977, № 8, с. 877—881.
70. *Лазарев Н. В.* Введение в гигиену. М.: Наука, 1966. 162 с.
71. *Ланкин В. З.* Перекиси липидов и атеросклероз. Гипотеза: Роль холестерина и свободнорадикального перекисного окисления липидов в изменении свойств клеточных мембран при гиперхолестеринемии и атеросклерозе. — Кардиология, 1980, № 8, с. 42—48.
72. *Ланкин В. З., Котелевцева Н. В., Познахирев П. Р.* Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты в патогенезе атеросклероза. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 58—61.
73. *Лутося Х. И., Роома М. Я., Групп Ж. М.* О соотношении содержания нитратов и аскорбиновой кислоты в овощах и фруктах. — Вопр. питания, 1980, № 3, с. 54—57.
74. *Меерсон Ф. З.* Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука, 1981. 258 с.
75. *Меерсон Ф. З.* Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 269 с.
76. *Меерсон Ф. З., Каган В. Е., Голубева Л. Ю., Уголев А. А., Шимкович М. В., Гибер Л. М., Ружицкая И. И.* Предупреждение стрессорных и гипоксических повреждений сердца с помощью антиоксиданта инола. — Кардиология, 1979, № 8, с. 108—111.
77. *Меерсон Ф. З., Каган В. Е., Козлов Ю. П., Белкина Л. М., Архипенко Ю. В.* Роль перекисного окисления липидов в патогенезе ишемического повреждения и антиоксидантная защита сердца. — Кардиология, 1982, № 2, с. 81—93.
78. *Меерсон Ф. З., Салтыкова В. А., Диденко В. В., Савов В. М., Каган В. Е., Смирнов Л. Д.* Роль перекисного окисления липидов в патогенезе аритмий и антиаритмогенное действие антиоксидантов. — Кардиология, 1984, № 5, с. 61—68.
79. *Методические рекомендации об использовании в профилактическом питании рабочих, занятых на работах с формальдегидом, лечебно-профилактического рациона № 2, составлен-*

ного с учетом патогенеза токсического действия формальдегида (МЗ СССР, 10 авг. 1978 г., № 1796) / Сост. О. Д. Голощапов. Л., 1980. 19 с.

80. Мягков И. И., Бадюк Р. А. Состояние окислительно-восстановительных процессов при инфаркте миокарда и их коррекция. — Кардиология, 1984, № 5, с. 104—107.
81. Нейман И. М. Канцерогены и пищевые продукты. М.: Медицина, 1972. 152 с.
82. Нейфах Е. А., Каган В. Е. Обнаружение перекисей липидов в органах нормальных животных. — Биохимия, 1969, т. 34, вып. 3, с. 511—516.
83. Пикитин В. Н. Экспериментальные подходы к продлению жизни. — В кн.: Биология старения. Л.: Наука, 1982, с. 548—568 (Руководство по физиологии).
84. Николаев С. М. Экспериментальная фармакотерапия повреждений печени. — Фармакол. и токсикол., 1983, № 1, с. 79—81.
85. Нитраты, нитриты и N-нитрозосоединения. Женева: ВОЗ, 1981. 27 с.
86. Павлова Н. И., Ливенсон Л. Р. Спектры ЭПР крови человека в норме и при лейкозах. — Биофизика, 1965, № 10, с. 169—171.
87. Пальмина Н. П. Изменение антиокислительной активности липидов при опухолевом росте. — В кн.: Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975, с. 90—125.
88. Пальмина Н. П., Бурлакова Е. Б. Противоопухолевые агенты как инициаторы перекисного окисления липидов. — Вестн. АМН СССР, 1985, № 1, с. 85—91.
89. Пальмина Н. П., Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Антиокислительная активность липидов в процессе старения и при воздействии геропротектора-антиоксиданта. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1979, № 2, с. 132—137.
90. Перекисное окисление и его регуляция в организме. Спорные вопросы терминологии, методов изучения и трактовки экспериментов. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 162—185.
91. Пинчук В. Г., Бердинских Н. К., Волощенко Ю. К. Экспериментальное обоснование применения в клинике ферментного препарата крови — церулоплазмина. — Вестн. АМН СССР, 1985, № 1, с. 22—27.
92. Плецутый К. Д. Витамины и естественный иммунитет. — Вопр. питания, 1981, № 3, с. 3—10.
93. Поздняков А. Л., Спиричев В. Б., Левачев М. М. Влияние недостаточности витамина Е и качественно различных жиров пищи на структуру аорты и артерий сердца и почек у крыс. — Вопр. питания, 1981, № 1, с. 45—50.
94. Потапенко А. Я. Методы изучения свободных радикалов. — В кн.: Биофизика / Под ред. Ю. А. Владимирова. М.: Медицина, 1983, с. 46—50.
95. Прончук Н. Ф., Гуревич М. И., Меерсон Ф. З. Депрессия сократительной активности изолированных кардиомиоцитов при действии высокой концентрации катехоламинов и предупреждение этого явления с помощью антиоксиданта. — Кардиология, 1984, № 5, с. 107—109.

96. *Ревес Л., Литбранд Б.* Двойственный эффект кислорода. — В кн.: Первичные и начальные процессы биологического действия радиации. М.: Наука, 1972, с. 151—161.
97. *Резник Б. Я., Минков И. П., Варбанец Д. А.* Роль метаболизма эритроцитов в генезе анемии у детей раннего возраста, больных пневмонией. — *Вопр. охраны материнства и детства*, 1983, № 9, с. 39—42.
98. *Рибаров С. Р., Бочев Н. Г.* Хемилюминесцентные исследования механизма гемолитического действия свинца. — В кн.: Биохемилюминесценция. М.: Наука, 1983, с. 149—163.
99. *Романова Л. А., Стальная И. Д.* Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония. — В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977, с. 64—66.
100. *Рубенчик Б. Л.* Питание, канцерогенез и рак. Киев: Наукова думка, 1979. 219 с.
101. *Рубенчик Б. Л., Романенко А. М., Гулич М. П.* Изучение возможности эндогенного синтеза диметилнитрозамина при введении крысам с пищей диметиламина и нитрита. — *Вопр. питания*, 1980, № 3, с. 50—54.
102. *Рюмина И. И.* Применение витамина Е у новорожденных и детей раннего возраста. — *Вопр. охраны материнства и детства*, 1983, № 6, с. 24—27.
103. *Саава М. Э., Шипилова Т. В., Тоомсалу Л. А.* Обеспеченность витаминами населения Прибалтики. — В кн.: Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. М.: Наука, 1981, с. 121—126.
104. *Свистухин В. Н., Чесноков А. И.* Атеросклероз: пути профилактики. М.: Знание, 1985. 96 с.
105. *Сейфулла Р. Д., Онищенко Н. А., Красова Е. И., Тимофеев А. Б.* Молекулярные механизмы противоишемической защиты миокарда фармакологическими средствами. — *Фармакология и токсикология*, 1980, № 4, с. 433—439.
106. *Сергеев П. В.* Стероидные гормоны. М.: Наука, 1984. 240 с.
107. *Скурихин И. М., Шатерников В. А.* Как правильно питаться. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. 188 с.
108. *Смолянский Б. Л.* Алиментарные заболевания. Л.: Медицина, 1979. 262 с.
109. *Спиричев В. Б.* Биохимические механизмы гипервитаминоза D: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1977. 16 с.
110. *Спиричев В. Б., Конь И. Я.* Жирорастворимые витамины и мембраны. — *Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева*, 1978, т. 23, № 4, с. 425—434.
111. *Справочник по профессиональной патологии* / Под ред. Л. Н. Грацианской, В. Е. Ковшило. Л.: Медицина, 1981. 374 с.
112. *Стальная И. Д.* Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных жирных кислот. — В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977, с. 63—64.
113. *Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г.* Методы определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. — В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977, с. 66—68.
114. *Стасенкова К. П., Бондарев Г. И.* Изучение профилактического действия токоферола при интоксикации CCl_4 на фоне

- различной обеспеченности водорастворимыми витаминами. — *Вопр. питания*, 1981, № 2, с. 35—40.
115. *Тарусов Б. Н.* Основы биологического действия радиоактивных излучений. М.: Медгиз, 1954. 130 с.
 116. *Титова Т. М.* Использование ультрафиолетовой квантометрии при онкологических заболеваниях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Калинин, 1971. 16 с.
 117. *Урланис Б. Ц.* Демография старения и перспективы эволюции продолжительности жизни. — В кн.: *Биология старения*. Л.: Наука, 1982, с. 87—115 (Руководство по физиологии).
 118. *Федосеев Г. Б.* Бронхиальная астма. — В кн.: *Руководство по пульмонологии* / Под ред. Н. В. Путова, Г. Б. Федосеева. Л.: Медицина, 1984, с. 282—325.
 119. *Фридович И.* Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода. — В кн.: *Свободные радикалы в биологии* / Под ред. Н. М. Эмануэля. М.: Мир, 1979, т. 1, с. 272—300.
 120. *Харченко Н. С., Малая Л. Г., Дергач Э. М., Карамышев А. И.* Витамин Е в терапии атеросклероза и токсическом поражении печени. М.: Наука, 1981. 84 с.
 121. *Химический состав пищевых продуктов* / Под ред. А. А. Покровского. М.: Пищ. пром-сть, 1976. 228 с.
 122. *Химический состав пищевых продуктов* / Под ред. М. Ф. Нестерина, И. М. Скурихина. М.: Пищ. пром-сть, 1979. 247 с.
 123. *Цебюжинский О. И., Потяженко М. М., Малич В. И.* Экспериментальные и клинические исследования при интоксикации фтором. — В кн.: *Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии*. М.: Наука, 1981, с. 74—76.
 124. *Чуракова Т. Д., Биленко М. В., Петрова Н. Г.* Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови больных с острым инфарктом миокарда, не получавших антиоксидант дибунол и на фоне его применения. — *Вестн. АМН СССР*, 1985, № 4, с. 71—74.
 125. *Шапот В. С.* Опухоли: Биохимия. — В кн.: *БМЭ*. 3-е изд., 1981, т. 17, с. 358—375.
 126. *Эйдус Л. Х.* Физико-химические основы радиобиологических процессов и защиты от излучений. М.: Атомиздат, 1979. 216 с.
 127. *Эмануэль Н. М.* Антиоксиданты в пролонгировании жизни. — В кн.: *Биология старения*. Л.: Наука, 1982а, с. 569—585 (Руководство по физиологии).
 128. *Эмануэль Н. М.* Физико-химия рака. — *Природа*, 1982б, № 1, с. 76—83.
 129. *Эмануэль Н. М., Лясковская Ю. Н.* Торможение окисления жиров. — М.: Пищепромиздат, 1961. 359 с.
 130. *Яцык Г. В.* Состояние питания детей старшего возраста: XVII Международный конгресс педиатров. Сообщ. V. — *Мед. реф. журн.*, 1984, разд. V, № 5, с. 1—3, № 1078.
 131. *Balafrej A., Bellakhdar J., el Haitem M., Khardi H.* Paralysied dues a la colle chez de jeunes apparenfis cordonniers de la medina de Fes. — *Rev. Pediatr.*, 1984, vol. 20, N 1, p. 43—47.
 132. (*Doll R., Peto R.*). *Долл Р., Пито Р.* Причины рака. Киев: Наукова думка, 1984. 254 с.
 133. *Fletcher B. L., Dillard C. I., Tappel A. L.* Measurement of fluo-

rescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. — *Analyt. Biochem.*, 1973, vol. 2, p. 1—9.

134. *Goldstein J. M., Kaplan H. B., Edelson H. S.* Ceruloplasmin a scavenger of superoxide anion radicals. — *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, N 10, p. 4040—4045.
135. (*Poling L.*). *Полинг Л.* Витамин С и здоровье. М.: Наука, 1974. 63 с.
136. (*Selye H.*). *Селье Г.* Профилактика некрозов сердца химическими средствами. — М.: Медицина, 1961. 208 с.
137. *Smith L. L.* *Cholesterol autooxidation*. New York: Plenum publ. corp., 1981. 237 p.
138. (*Terroine T.*). *Террюан Т.* Взаимодействие витаминов. М.: Мир, 1969. 372 с.

СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

АДФ	— аденозиндифосфат
АК	— аскорбиновая кислота
АН	— акрилонитрил
АОА	— антиокислительная активность
АОН	— антиокислительная недостаточность
АОС	— антиоксидантная система
АТФ	— аденозинтрифосфат
БММ	— биомакромолекулы
БП	— бенз(а)пирен
ГБО	— гипербарическая оксигенация
ГП	— глутатионпероксидаза
ГР	— глутатионредуктаза
ДАБ	— диметиламиноазобензол
ДАК	— дегидроаскорбиновая кислота
ДМА	— диметиламин
ДМБА	— диметилбенз(а)антрацен
ДМНА	— деметилнитрозамин
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДФ	— дыхательный фермент
ДЭНА	— диэтилнитрозамин
ЖК	— жирные кислоты
ИБС	— ишемическая болезнь сердца
ЛМС	— лейкоформа метиленового синего
ЛП	— липопротеиды
ЛПВП	— липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	— липопротеиды низкой плотности
ЛПОНП	— липопротеиды очень низкой плотности
МДА	— малоновый диальдегид
МС	— метиленовый синий
МХ	— метилхолантрен
НА	— нитрозамин
НАД	— никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НЖК	— ненасыщенные жирные кислоты
ПАУ	— полициклические углеводороды
ПНЖК	— полиненасыщенные жирные кислоты
ПОЛ	— перекисное окисление липидов
ПФ	— полифенолы
РНК	— рибонуклеиновая кислота
СОД	— супероксиддисмутаза

СР	— свободный радикал
СРО	— свободнорадикальное окисление
ТКФ	— трикрезилфосфат
ТФ	— токоферол (витамин Е)
ФЛ	— фосфолипиды
ФОС	— фосфорорганические соединения
ФС	— фенольные соединения
ХМ	— хиломикроны
ХС	— холестерин
цАМФ	— циклический аденозинмонофосфат
ЦНС	— центральная нервная система
ЦП	— церулоплазмин
ЭБС	— эмоционально-болевой стресс
ЭПР	— электронный парамагнитный резонанс

G—SH	— восстановленный глутатион
G—SS—G	— окисленный глутатион
Hb	— гемоглобин
HO ₂ [•]	— гидропероксид (гидроперекисный радикал)
In	— ингибитор
MetHb	— метгемоглобин
[•] O ₂	— синглетный кислород
O ₂ ^{•-}	— супероксидный радикал
OH [•]	— гидроксильный радикал
R [•]	— радикал
ROO [•]	— перекисный радикал
—SH	— сульфгидрильная группа
—S—S—	— дисульфидная связь

	Стр.
Введение	3
Глава 1. Биологические мембраны, свободные радикалы, кислород, антиоксиданты	7
Биологические мембраны и их состав	7
Свободные радикалы	12
Свободнорадикальное окисление липидов	17
Кислород и продукты его обмена	22
Антиоксиданты	28
Методы изучения свободных радикалов и перекисного окисления в биологических системах . .	34
Глава 2. Противоокислительные вещества и физиологическая антиоксидантная система	37
Фенольные антиоксиданты	38
Витамин Е	41
Убихинон	45
Эстрогены	46
Серосодержащие соединения	48
Селен	50
Витамин С	54
Витамин А и каротиноиды	60
Ферменты-антиоксиданты	69
Глава 3. Липиды, их перекисное окисление и антиоксиданты	74
Состав липидов	74
Фосфолипиды	75
Холестерин	78
Витамин D	82
Глава 4. Питание и антиоксиданты	86
Что такое рациональное питание	86
Антиоксиданты в пище	94
Нерациональное питание и его последствия	98
Глава 5. Атеросклероз, ишемическая болезнь сердца и антиоксидантная недостаточность	103
Атеросклероз, механизмы развития и факторы риска	103

	Перекисная концепция происхождения атеро- склероза	109
	Синдром пероксидации и возникновение ишемиче- ских повреждений сердца	125
	Антиоксидантная защита сердца	132
Глава 6.	Радиация, свободные радикалы и антиоксиданты	135
	Радиация и процессы перекисного окисления ли- пидов	135
	Радиопротекторы	138
Глава 7.	Онкогенез, свободные радикалы и антиоксиданты	144
Глава 8.	Канцерогены в пище и антиоксиданты	154
	Канцерогены в пище	154
	Антиоксиданты и канцерогены	162
Глава 9.	Заболевания органов дыхания и антиоксиданты	168
Глава 10.	Старение, свободные радикалы и антиоксиданты	178
	Старение и свободные радикалы	180
	Повреждение биологических систем свободными радикалами	181
	Возраст и антиоксидантная защита	182
	Антиоксиданты как геропротекторы	184
Глава 11.	Яды и антиоксиданты	187
	Бензол	189
	Фосфорорганические соединения	192
	Метгемоглобин и антиоксиданты	197
	Четыреххлористый углерод	200
	Акрилонитрил	204
	Кислород — токсический агент	205
	Заключение	215
	Литература	218
	Сокращения и условные обозначения	227

Ж. И. Абрамова, Г. И. Оксенгендлер

**ЧЕЛОВЕК И ПРОТИВООКИСЛИТЕЛЬНЫЕ
ВЕЩЕСТВА**

С е р и я «От молекулы до организма»

*Утверждено к печати
редколлекцией серии научно-популярных изданий
Академии наук СССР*

Редактор издательства Б. Н. Ушаков
Художник Г. В. Смирнов
Технический редактор Н. А. Кругликова
Корректоры С. В. Добрянская и Н. П. Кизим

ИБ № 21340

Сдано в набор 11.10.85. Подписано к печати 27.12.85.
М-28136. Формат 84×108¹/₃₂. Бумага офсетная № 2.
Гарнитура обыкновенная. Печать высокая.
Усл. печ. л. 12.18. Усл. кр.-от. 12.43. Уч.-изд. л. 12.8.
Тираж 26 500. Тип. зак. № 893. Цена 85 к.

Ордена Трудового Красного Знамени
издательство «Наука». Ленинградское отделение.
199164, Ленинград, В-164, Менделеевская лин., 1.

Ордена Трудового Красного Знамени
Первая типография издательства «Наука».
199034, Ленинград, В-34, 9 линия, 12.